

**Histologische, histochemische
und ultrastrukturelle Untersuchungen
am Drüsen-und Muskelmagen
der japanischen Wachtel
(*Coturnix coturnix iaponica*)**

Christian Hauke

Disbui. München

1988





Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus dem
INSTITUT FÜR TIERANATOMIE DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN

Lehrstuhl für Tieranatomie II
insbesondere Allgemeine Anatomie,
Histologie und Embryologie
Vorstand: Prof. Dr. F. Sinowatz

**Histologische, histochemische und ultrastrukturelle
Untersuchungen am Drüsen- und Muskelmagen
der japanischen Wachtel
(*Coturnix coturnix japonica*)**

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde der
Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München

von

Christian Hauke

aus

Weilheim

München 1987

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Prof. Dr. M. Rüsse

Referent: Prof. Dr. F. Sinowatz

Korreferent: Prof. Dr. D. Giesecke

Tag der Promotion: 26. Februar 1988

Einleitung

1	Einleitung	1
2	1. Kapitel	2
3	2. Kapitel	3
4	3. Kapitel	4
5	4. Kapitel	5
6	5. Kapitel	6
7	6. Kapitel	7
8	7. Kapitel	8
9	8. Kapitel	9
10	9. Kapitel	10
11	10. Kapitel	11
12	11. Kapitel	12
13	12. Kapitel	13
14	13. Kapitel	14
15	14. Kapitel	15
16	15. Kapitel	16
17	16. Kapitel	17
18	17. Kapitel	18
19	18. Kapitel	19
20	19. Kapitel	20
21	20. Kapitel	21
22	21. Kapitel	22
23	22. Kapitel	23
24	23. Kapitel	24
25	24. Kapitel	25
26	25. Kapitel	26
27	26. Kapitel	27
28	27. Kapitel	28
29	28. Kapitel	29
30	29. Kapitel	30
31	30. Kapitel	31
32	31. Kapitel	32
33	32. Kapitel	33
34	33. Kapitel	34
35	34. Kapitel	35
36	35. Kapitel	36
37	36. Kapitel	37
38	37. Kapitel	38
39	38. Kapitel	39
40	39. Kapitel	40
41	40. Kapitel	41
42	41. Kapitel	42
43	42. Kapitel	43
44	43. Kapitel	44
45	44. Kapitel	45
46	45. Kapitel	46
47	46. Kapitel	47
48	47. Kapitel	48
49	48. Kapitel	49
50	49. Kapitel	50
51	50. Kapitel	51
52	51. Kapitel	52
53	52. Kapitel	53
54	53. Kapitel	54
55	54. Kapitel	55
56	55. Kapitel	56
57	56. Kapitel	57
58	57. Kapitel	58
59	58. Kapitel	59
60	59. Kapitel	60
61	60. Kapitel	61
62	61. Kapitel	62
63	62. Kapitel	63
64	63. Kapitel	64
65	64. Kapitel	65
66	65. Kapitel	66
67	66. Kapitel	67
68	67. Kapitel	68
69	68. Kapitel	69
70	69. Kapitel	70
71	70. Kapitel	71
72	71. Kapitel	72
73	72. Kapitel	73
74	73. Kapitel	74
75	74. Kapitel	75
76	75. Kapitel	76
77	76. Kapitel	77
78	77. Kapitel	78
79	78. Kapitel	79
80	79. Kapitel	80
81	80. Kapitel	81
82	81. Kapitel	82
83	82. Kapitel	83
84	83. Kapitel	84
85	84. Kapitel	85
86	85. Kapitel	86
87	86. Kapitel	87
88	87. Kapitel	88
89	88. Kapitel	89
90	89. Kapitel	90
91	90. Kapitel	91
92	91. Kapitel	92
93	92. Kapitel	93
94	93. Kapitel	94
95	94. Kapitel	95
96	95. Kapitel	96
97	96. Kapitel	97
98	97. Kapitel	98
99	98. Kapitel	99
100	99. Kapitel	100

Frau
Hildegunde Pflanz
gewidmet

INHALTSVERZEICHNIS

1.	EINLEITUNG	1
2.	LITERATURÜBERSICHT	2
2.1.	Anatomie und Histologie des Vogelmagens	2
2.1.1.	Drüsenmagen	2
2.1.2.	Muskelmagen	7
2.2.	Lektine	14
2.3.	Enteroendokrine Zellen	20
2.4.	Endogene Opioide	26
3.	MATERIAL UND METHODEN	31
3.1.	Material	31
3.2.	Methoden	33
4.	ERGEBNISSE	38
4.1.	Lichtmikroskopie	38
4.1.1.	Übersichtsfärbungen	38
4.1.1.1.	Drüsenmagen	38
4.1.1.2.	Muskelmagen	39
4.1.2.	Semidünnschnittechnik	45
4.1.2.1.	Drüsenmagen	45
4.1.2.2.	Muskelmagen	46
4.2.	Elektronenmikroskopie	49
4.2.1.	Drüsenmagen	49
4.2.2.	Muskelmagen	50
4.3.	Histochemie	61
4.3.1.	Lektinbindungsstellen	61
4.3.1.1.	Drüsenmagen	61

4.3.1.2.	Muskelmagen	66
4.3.2.	Immunocytochemischer Nachweis von gastrointestinalen Hormonen	77
4.3.2.1.	Drüsenmagen	77
4.3.2.2.	Muskelmagen	77
4.3.3.	Immunocytochemischer Nachweis von endogenen Opioiden	80
4.3.3.1.	α - Neoendorphin	80
4.3.3.1.1.	Drüsenmagen	80
4.3.3.1.2.	Muskelmagen	80
4.3.3.2.	Dynorphin 1-17	81
4.3.3.2.1.	Drüsenmagen	81
4.3.3.2.2.	Muskelmagen	82
4.3.3.3.	β - Endorphin	82
4.3.3.3.1.	Drüsenmagen	82
4.3.3.3.2.	Muskelmagen	83
5.	DISKUSSION	87
6.	ZUSAMMENFASSUNG	101
7.	SUMMARY	103
8.	ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	105
9.	LITERATURVERZEICHNIS	107
	DANKSAGUNG	
	LEBENS LAUF	

1. EINLEITUNG

In den letzten Jahren hat die Wachtel als Versuchstier immer mehr an Bedeutung gewonnen. Als kleiner, anspruchsloser Vertreter der körnerfressenden Vögel dient sie als Modell für das größere Nutzgeflügel. Die Erforschung der Histologie und speziell der Histochemie des Magens kann dabei eine Grundlage für physiologische und ernährungsphysiologische Untersuchungen bieten. Im bislang einzigen, speziell die Wachtel behandelnden Buch (FITZGERALD, 1969), wird jedoch der histologische Aufbau des Magens nur oberflächlich behandelt. Eine Beschreibung der histochemischen Besonderheiten fehlt völlig.

Histochemische Arbeitsmethoden jedoch gewinnen zunehmend an Bedeutung. So wurden etwa Lektinbindungsstellen in verschiedenen Organen erst in den letzten Jahren bestimmt, obgleich Lektine bereits seit geraumer Zeit bekannt sind. Im Vordergrund stand dabei die Verwendung von Lektinen als Marker in physiologischen, embryologischen und vor allem onkologischen Untersuchungen.

Die Lokalisierung von Hormonzellen im Magen- Darm- Trakt ist auf immunocytochemische Weise möglich. Die dabei nachgewiesenen intestinalen Hormone spielen eine große Rolle in der Regulation der Verdauung. Ein neues Gebiet der Histochemie ist die Untersuchung von endogenen Opioiden. Diese wurden vor etwa 15 Jahren entdeckt und seitdem in einer großen Anzahl von Organen nachgewiesen. Ihre Bedeutung kann aufgrund ihrer mannigfaltigen Funktionsmöglichkeiten noch kaum abgeschätzt werden.

Die vorliegende Arbeit hatte zum Ziel, die Morphologie und einige Aspekte der Histochemie des Wachtelmagens zusammenfassend darzustellen, um als Grundlage für weitergehende Untersuchungen verschiedener Fachrichtungen zu dienen.

2. LITERATURÜBERSICHT

2.1. Anatomie und Histologie des Vogelmagens

Makroskopisch läßt sich beim Vogel der Drüsenmagen (Proventriculus) und der Muskelmagen (Ventriculus) unterscheiden (Abb. 1, 2).

2.1.1. Drüsenmagen

Der Drüsenmagen ist ein spindelförmiges, dickwandiges Organ, das im craniodorsalen Bereich der Bauchhöhle, links der Medianebene, liegt. Er ist bei der Wachtel 1,3 bis 1,5 cm lang und besitzt einen maximalen Durchmesser von 0,7 bis 0,8 cm. Seine äußere Oberfläche ist mit Peritoneum überzogen. Auf seiner inneren Oberfläche sind zahlreiche Mucosa- Längsfalten sowie kleine, konische Erhebungen für die Ausführungsgänge der Magendrüsen erkennbar. Die Weite seines Lumens ist nur geringfügig größer als im Oesophagus. Caudal wird der Drüsenmagen von einer Einschnürung, der Zona intermedia gastris, begrenzt. Der Drüsenmagen liegt ventral dem linken Leberlappen vollständig auf. Lateral grenzt er an die Bauchwand sowie an das thoracoabdominale Diaphragma im Bereich des dritten, vierten und fünften Zwischenrippenraums. Er wird dorsal vom pulmonalen Diaphragma, den Lungen und einem Teil der Hoden bzw. der Ovarien und des Darmes bedeckt. Dorsomedial benachbart ist die Milz, medial der akzesessorische Leberlappen sowie die Vena cava caudalis.

Die Hauptfunktion des Drüsenmagens liegt in der Sekretion von Magensäure und Verdauungsenzymen. Eine weitergehende Verdauung der Nahrungsbestandteile findet hier, bedingt durch das enge Lumen und die daraus folgende schnelle Passage, nicht statt.

Das Verbindungsstück zum Muskelmagen wird als Isthmus oder Zona intermedia gastris bezeichnet. Sein Lumendurchmesser entspricht etwa dem des

Oesophagus. Seine Wandstärke ist deutlich geringer als beim Drüsenmagen (FITZGERALD, 1969, MICHEL, 1971, McLELLAND, 1979, DUKE, 1986).

Die Wand des Drüsenmagens läßt sich, wie auch in anderen Teilen des Verdauungstrakts, in Mucosa, Submucosa, Muskelschicht und serösen Überzug gliedern.

Am Übergang vom Oesophagus in den Drüsenmagen wird das Schleimhautepithel allmählich dünner und geht vom mehrschichtigen Plattenepithel der cutanen in das einschichtig hochprismatische Epithel der Magenschleimhaut über (FITZGERALD, 1969).

Die Lamina propria des Drüsenmagens enthält zwei unterschiedlich gestaltete Arten von Drüsen, nämlich oberflächliche und tiefe Drüsen.

Die oberflächlichen Drüsen bestehen aus einfachen, geraden oder leicht gewundenen Schläuchen, die sich an ihrem Grund etwas erweitern. Ihre Epithelauskleidung besteht aus isoprismatischen Zellen, die in der Nähe der Drüsenmündung in das hochprismatische Oberflächenepithel übergehen. Die oberflächlichen Drüsen des Drüsenmagens sind als kryptenartige Einsenkungen der Magenoberfläche anzusehen. Ihr Sekretionsprodukt besteht aus Mucopolysacchariden.

Die tiefen Drüsen machen einen Großteil der Wandstärke des Drüsenmagens aus. Sie bestehen aus einzelnen, polygonalen Läppchen, welche wiederum aus radiär angeordneten, dicht gepackten, einfachen oder gabelig geteilten Drüenschläuchen zusammengesetzt sind. Die Tubuli münden in einen zentralen Hohlraum, der über ein Sammelrohr mit dem Magenlumen in Verbindung steht. Das Epithel der Drüsenendstücke ist isoprismatisch. Im Verlauf der Ausführungsgänge wird es allmählich höher und geht schließlich in das hochprismatische Oberflächenepithel über.

Im Gegensatz zum Säugetier enthält das Drüsenepithel beim Vogel nur eine Art von exokrinen Zellen. Diese produzieren, wie ihr histochemisches Verhalten zeigt, sowohl Pepsinogen (entsprechend den Hauptzellen beim Säugetier) als auch Salzsäure (entsprechend den Belegzellen beim

Säugetier) (LUPPA, 1962, MICHEL, 1971, DUKE, 1986). Im englischen Sprachraum werden sie deshalb als "oxynticopeptic cells" bezeichnet (JAIN, 1976, VIAL et al., 1979).

Die Lamina propria mucosae und die Tunica submucosa bestehen aus lockerem, stark vaskularisiertem Bindegewebe. Sie werden voneinander durch eine dünne und unterbrochene Lamina muscularis mucosae getrennt. Die relativ schwach entwickelte Tunica muscularis setzt sich aus einer inneren zirkulären und einer äußeren longitudinalen Schicht zusammen. In der Tunica submucosa und zwischen den Muskelschichten finden sich Nervenplexus und Ganglien. Den äußeren Abschluß der Wand bildet eine einfache Schicht von Mesothelzellen (LUPPA, 1962, FITZGERALD, 1969, MICHEL, 1971, JAIN, 1976).

Während in der deutschsprachigen Literatur die tiefen Drüsen übereinstimmend als tiefe Propriadrüsen angesprochen werden, werden sie in der englischsprachigen Literatur teilweise als Submucosadrüsen eingeordnet (TONER, 1963, HORVATH, 1974). Eine Untersuchung zu dieser Frage wurde von FEDER (1972) durchgeführt. Dabei wurden vor allem Längsschnitte des Drüsenmagens verschiedener Vogelarten ausgewertet. Demnach spaltet sich die Lamina muscularis mucosae am Übergang vom Oesophagus zum Drüsenmagen ab. Ihr Hauptteil zieht außen um die Drüsen herum, während einzelne, nicht zusammenhängende Fasern zwischen den Drüsenläppchen oder zwischen oberflächlichen und tiefen Drüsen verlaufen. Am Beginn der Intermediärzone vereinigen sich die Muskelfasern wieder. Folglich liegen die tiefen Drüsen oberhalb des Hauptteils der Lamina muscularis mucosae, und damit in der Propria. Sie können daher als "tiefe Propriadrüsen" bezeichnet werden.

Elektronenmikroskopische Untersuchungen zur Ultrastruktur der Drüsenzellen wurden von TONER (1963) und HORVATH (1974) angestellt. Die einzelnen Zelltypen wurden insbesondere von HORVATH (1974) charakterisiert. Die hochprismatischen Zellen des Schleimhautepithels tragen an ihrem

apikalen Ende wenige kurze Mikrovilli, die extrazellulär von einer mucopolysaccharidhaltigen Membran bedeckt sind. Benachbarte laterale Zellmembranen sind in ihrem basalen Bereich durch zahlreiche Invaginationen verbunden. An ihrer Spitze sind aneinander grenzende Zellen durch junctional complexes verbunden. Darunter vermitteln Desmosomen den Zellkontakt. Die Interzellularspalten sind weit. Die basale Zellmembran ist durch Invaginationen vergrößert, denen die gut ausgebildete Basalmembran nicht folgt. Das Zytoplasma oberhalb des länglichen, basal gelegenen Kerns enthält Muzingranula von unregelmäßiger Gestalt sowie Mitochondrien. Oberhalb und seitlich des Kerns befinden sich ausgeprägte Golgifelder, freie Ribosomen sowie ein deutlich ausgebildetes rauhes Endoplasmatisches Reticulum.

Das Epithel der Ausführungsgänge der tiefen Drüsen besteht aus hochprismatischen Zellen, deren apikaler Teil ins Lumen vorspringt, da ihre junctional complexes weit basal liegen. Die lateralen Zellmembranen sind durch fingerförmige Verzahnungen miteinander verbunden. Interzellularspalten und Desmosomen kommen lediglich stellenweise vor. Die basale Zellmembran ist in Falten gelegt. Das Zytoplasma enthält im apikalen Bereich Tubuli und Vesikel. Charakteristisch sind relativ kurze Mitochondrien mit wenigen Cristae oberhalb des Kerns. Im Perikaryon finden sich freie Ribosomen sowie einige Zisternen des Endoplasmatischen Reticulums mit wenigen angelagerten Ribosomen.

Die Epithelzellen der tiefen Propriadrüsen sind in ihrer Form isoprismatisch oder leicht hochprismatisch. Sie vereinigen die Funktionen sowie auch die strukturellen Merkmale der Haupt- und Belegzellen der Säugetiere. Für ihre Gestalt ist der Funktionszustand des Magens entscheidend. Im Ruhezustand weiten sich die Zellen basal, so daß ihr relativ schmaler, abgerundeter Apex ins Drüsenlumen ragt. Die freie Oberfläche ist glatt. Die Schlußleiste liegt weit basal, so daß ein enger Kontakt benachbarter Zellen nur im unteren Drittel der Zellen vorkommt.

Die interzellulären Verbindungen bestehen aus fingerförmigen Zytoplasmafortsätzen. Die basale Zellmembran zeigt Invaginationen

Charakteristisch für diesen Zelltyp sind große, runde Mitochondrien mit einer großen Anzahl von Cristae mitochondriales. Im apikalen Zytoplasma ist ein System von Vesikeln und Tubuli erkennbar, das möglicherweise dem glatten Endoplasmatischen Reticulum zuzuordnen ist. Seitlich und basal des Kerns liegt ein gut entwickeltes raues Endoplasmatisches Reticulum sowie ein ausgeprägter Golgi-Apparat. Sekretgranula befinden sich hauptsächlich im oberen Teil der Zelle, doch findet man auch im basalen Bereich runde, homogene Körper verschiedener Dichte, bei denen es sich vermutlich um Pepsinogen-Granula handelt. Der Zellkern ist groß, rund, chromatinreich und basal gelegen und besitzt einen ausgeprägten Nucleolus.

In Sekretion befindliche Zellen sind schlanker und weniger ins Lumen vorgewölbt. Ihr freier Rand ist bis herab zur Schlußleiste besetzt mit bulbösen Mikrovilli. Zwischen den einzelnen Zellen bestehen stärkere Kontakte, die basalen Einfaltungen sind vermehrt. Kern und raues Endoplasmatisches Reticulum sind etwas nach oben verlagert, die Vakuolen im apikalen Bereich sind deutlich reduziert.

Argentaffine Zellen liegen entlang der Basalmembran zwischen den prismatischen Epithelzellen der tiefen Drüsen. Ihr Zytoplasma ist mit gleichartigen, runden, membranumhüllten, elektronendichten Granula angefüllt. Das Endoplasmatische Reticulum ist ebenso wie die Mitochondrien schwach entwickelt. Der Zellkern ist rund und liegt zentral.

Die Gefäßversorgung des Drüsenmagens geht, ebenso wie die des Muskelmagens, vom Truncus coeliacus aus, welcher unter dem sechsten Brustwirbel aus der Aorta abdominalis entspringt. Zum Drüsenmagen führen die A. oesophagea recurrens, die A. gastrica glandularis dextra sowie die Aa. gastricae glandulares sinistrae. Diese drei Arterien durchbrechen den serösen Magenüberzug und bilden in der Tiefe der Magenwand ein arterielles Geflecht. Von diesem aus erfolgt die kapilläre Blutversorgung

der Schleimhaut. Der Abfluß des Blutes aus dem Drüsenmagens erfolgt über ein Venengeflecht, das im Vergleich zum arteriellen etwas weiter oberflächlich liegt. Dieses wird von drei Venen gebildet, die in ihrem weiteren Verlauf verschiedene Wege nehmen: V. gastrica glandularis cranialis (mündet in die V. cava cranialis sinistra), V. gastrica glandularis dextra (mündet in die V. portae dextra) und V. gastrica glandularis sinistra (mündet in die V. portae sinistra) (NISHIDA et al., 1968).

2.1.2. Muskelmagen

Die beiden Hauptkennzeichen des Muskelmagens sind eine äußerst kräftige Muskulatur sowie eine harte, keratinartige Innenauskleidung. Der Muskelmagen liegt zum überwiegenden Teil links der Medianebene im mittleren bis ventralen Bereich der Bauchhöhle. Bei der Wachtel ist er 2,3 -2,5 cm lang, besitzt einen Durchmesser von etwa 1,5 cm und stellt so eines der größten Organe des Körpers dar. Der Muskelmagen grenzt an zahlreiche andere Organe der Leibeshöhle: Dorsolateral wird er vom großen abdominalen Luftsack bedeckt. Links liegt er der Bauchwand sowie der Leber an und ist hier bei manchen Vögeln in große Mengen subperitonealen Fettgewebes eingebettet. Seine dorsale Oberfläche grenzt an das linke Caecum, den Dünndarm und die Ovarien bzw. Testes. Auf der rechten Seite ist er dem Anfang und Ende des Duodenums, dem cranialen Anteil des Pankreas und dem rechten Caecum benachbart. Ventral liegt er auf dem rechten und linken Leberlappen, der Bauchwand und einer unterschiedlichen Menge subperitonealen Fetts. Duodenum und Pankreas bilden den cranialen Abschluß des Muskelmagens.

Die Magenwand wird im wesentlichen durch zwei Muskelpaare gebildet. Die beiden schwächeren Musculi intermedii entspringen cranial in der Nähe des Drüsenmagens bzw. am caudalen Ende des Muskelmagens. Die beiden kräftigen Musculi laterales flankieren die Mm. intermedii caudodorsal und

cranioventral. Alle Magenmuskeln inserieren an zwei kreisförmigen Sehnenplatten an der medialen und lateralen Seite des Organs. Da der Muskelmagen leicht um seine Längsachse gedreht ist, weist die rechte Sehnenplatte ventral-, die linke dagegen dorsalwärts. Der Hohlraum des Muskelmagens zeigt eine S- förmige Krümmung mit einem craniodorsalen und einem caudoventralen Blindsack (Divertikel). Die Wand der Blindsäcke wird von den Mm. intermedii gebildet. Die in longitudinale Falten gelegte Schleimhaut wird von einer harten, gelblichen Substanz bedeckt, die von den darunterliegenden Drüsen produziert wird. Die chemische Analyse dieses Sekrets ergab eine Zusammensetzung ähnlich der des Keratins mit einem geringeren Gehalt an Schwefel bzw. Cystin. Daher wird diese Schicht auch als "keratinoide Schicht" benannt.

Die Keratinoidschicht ist dünn über schwachen Muskelpartien und dick über den kräftigen Muskeln. Entsprechend ihrer Funktion wird sie auch als Reibplatte bezeichnet. Art- und ernährungsbedingte Unterschiede in der Magenstärke schlagen sich sowohl in der Dicke der Muskulatur als auch in Dicke und Härte des Keratinoids nieder.

Der Muskelmagen dient der mechanischen Zerkleinerung der aufgenommenen Nahrung. Das Futter wird mit Hilfe kleiner Steinchen (Grit) zwischen den Muskelschichten zermahlen. Erst im Anschluß daran können proteolytische Enzyme, die bereits im Drüsenmagen sezerniert wurden, ihre Wirksamkeit entfalten (BAUER, 1901, CORNELIUS, 1925, FITZGERALD, 1969).

Der histologische Bau der Muskelmagenwand ist durch das Fehlen der Lamina muscularis mucosae sowie durch die von den Magendrüsen sezernierte Keratinoidschicht gekennzeichnet. Als einziger Autor beschreibt JAIN (1976) eine schwach entwickelte Lamina muscularis mucosae im Muskelmagen eines Papageis (*Psittacula krameri*).

Die äußere Begrenzung des Organs wird durch eine feine Serosa gebildet. Es folgt nach innen die ein- (Mm. laterales) oder zweischichtige (Mm. intermedii) Tunica muscularis, die, je nach Vogelart und Ernährungsweise,

unterschiedlich kräftig ausgebildet ist. Direkt oberhalb der Muskeln sowie in den Bindegewebssepten zwischen den einzelnen Muskelbündeln findet man große Nervenplexus und Ganglien.

Tunica submucosa und Lamina propria mucosae können wegen der fehlenden Lamina muscularis mucosae nicht eindeutig getrennt werden. In die Lamina propria eingebettet findet man die Schleimhautdrüsen. Diese bestehen aus einfachen, parallelen Drüsenschläuchen, die an ihrem Ende bis zu viermal verzweigt sind. An der Schleimhautoberfläche münden sie in flache Krypten. Das Epithel ist in der Tiefe der Drüsen niedrig prismatisch, wird gegen den Drüsenhals zu flacher und geht ohne deutliche Grenze in das etwas höhere, ebenfalls sezernierende Oberflächenepithel über. Jeweils zehn bis dreißig Einzeldrüsen sind durch stärkere Bindegewebssepten zu einer Gruppe zusammengefaßt. Das histologisch charakteristische Element des Muskelmagens stellt die Keratinoidschicht dar. Diese zeigt eine typische Struktur mit Längs- und Querstreifung. Dabei wird die Querstreifung durch Phasen unterschiedlicher Sekretionsaktivität der Zellen der Krypten und des Oberflächenepithels verursacht. Bei den Längsstreifen handelt es sich um Sekretsäulen von größerer Härte als die umgebende Matrix, welche von den Zellen im Inneren der Drüsenschläuche produziert werden. Durch diese Anordnung entsteht an der Oberfläche ein gezahntes Profil, das die Zerkleinerung von Nahrungsbestandteilen begünstigt. Das Keratinoid besteht aus sauren und neutralen Mucopolysacchariden, deren Verhältnis zueinander bei verschiedenen Vogelarten unterschiedlich ist. Dadurch wird ein dem jeweiligen Hauptnahrungsmittel angepaßter Härtegrad der Reibplatten erreicht. In der Grundsubstanz sind auch abgestoßene Zellen oder Zelltrümmer aufzufinden, die aus dem Epithel der Krypten und der Oberfläche stammen (CORNELIUS, 1925, EGLITIS und KNOUFF, 1962, LUPPA, 1962, TONER, 1964, FITZGERALD, 1969, MICHEL, 1971).

Eingehende, auch elektronenmikroskopische Untersuchungen der Muskulatur

des Muskelmagens stellten BENNETT und COBB (1969) sowie GABELLA (1985) an. BENNETT und COBB (1969) fanden, daß die einzelnen Muskelbündel in den Mm. laterales wesentlich größer und dichter gepackt sind als in den Mm. intermedii. Letztere besitzen eine innere, longitudinale Schicht, die den vorhergenannten fehlt. In beiden Muskeln anastomosieren die Bündel miteinander und sind durchzogen von teilweise parallel verlaufenden Gefäßen und Nervenfasern. Die einzelnen, spindelförmigen Muskelzellen sind enger miteinander verbunden als in anderen glatten Muskeln. Das Zytoplasma enthält am Rand der Zellmembran teilweise dunkle Flecken und intrazelluläre Hohlräume, welche manchmal sichtbar aus der Membran eingestülpt sind. In unregelmäßiger Anordnung finden sich "dense bodies". Dicke (Myosin-) und dünne (Actin-) Myofilamente sowie sehr große Mitochondrien füllen das Zytoplasma aus. An manchen Stellen nähern sich unbescheidete Nerven mit Granula oder mit agranulären Vesikeln den Muskelzellen, ohne jedoch prä- oder postsynaptische Spezialisierungen auszubilden. GABELLA (1985), beschreibt die Muskulatur als lange, gut abgegrenzte Bündel, die zirkulär und konzentrisch angeordnet zwischen den beiden Sehnenplatten verlaufen. Die Sehnenplatten sind sehr kompakt und bestehen aus parallelen Kollagenfasern und sternförmigen Fibroblasten. Ihre Ultrastruktur ist derjenigen der Sehnen in der Skelettmuskulatur sehr ähnlich. Die Muskelzellen inserieren mit longitudinalen Invaginationen und fingerförmigen Endfortsätzen in der Sehne. Am scharf begrenzten Übergang zwischen Muskel und Sehne fand der Autor kleine (6-8 μm) Verbindungszellen, angefüllt mit rauhem Endoplasmatischem Reticulum und Myofilamenten.

TONER (1964) veröffentlichte eine Arbeit über die Ultrastruktur der Epithelzellen im Muskelmagen. Er fand vier Zelltypen, die sich sowohl in ihrer Lage als auch in ihrem ultrastrukturellen Aussehen unterscheiden: die Hauptzellen, welche die Drüsenschläuche auskleiden, die Zellen des Oberflächenepithels, die argyrophilen Zellen sowie als vierten Typ blasse

Zellen an der Drüsenbasis, die er als Vorläufer der Hauptzellen ansieht.

Die Hauptzellen sind am Drüsengrund isoprismatisch. In der Nähe der Oberfläche werden sie - möglicherweise durch den Druck des sezernierten Keratinoids - abgeflacht. Die freie Oberfläche dieser Zellen ist mit geraden, stummeligen Mikrovilli besetzt. Die lateralen Zellmembranen liegen eng aneinander. Unterhalb der apikalen junctional complexes kommen Desmosomen vor. Die basale Zellmembran ist glatt und sitzt auf einer kräftigen Basalmembran. Der Zellkern ist am Drüsengrund rund und wird im Bereich der abgeflachten Zellen oval. Die Kernmembran weist leichte Einziehungen auf. Das sehr dichte Zytoplasma enthält Sekretgranula in den Golgi- Feldern sowie an der Zellspitze. Der Golgi- Apparat ist gut entwickelt und befindet sich oberhalb und seitlich des Zellkerns. Vor allem der basale Anteil der Zellen ist angefüllt mit rauhem Endoplasmatischem Reticulum mit typischen länglichen Zisternen sowie mit freien Ribosomen. Die Mitochondrien sind unauffällig. Das Gesamtbild ist das einer charakteristischen Protein sezernierenden Zelle.

Die Zellen des Oberflächenepithels sind etwas höher als die Hauptzellen am Drüsenhals. Ihr freier Rand ist mit Mikrovilli besetzt und ragt in das Magenlumen. Die basale Zellmembran ist unregelmäßig gebogen und wird dabei von der Basalmembran verfolgt. Am apikalen Rand des Zytoplasmas befindet sich eine für diesen Zelltyp charakteristische Zone mit abgelagerten Sekretgranula. Im basalen Teil des Zellkörpers findet sich rauhes Endoplasmatisches Reticulum. Die Golgi- Felder seitlich des Kerns sind stark vakuolisiert, die Mitochondrien sind blaß und angeschwollen mit teilweise zerstörter Innenstruktur, der Kern ist unregelmäßig und fleckig. Die zu beobachtenden Anzeichen von Degeneration könnten darauf hindeuten, daß diese Zellen zugrundegehende Hauptzellen sind.

Basalzellen werden in einer Anzahl von zwei bis drei pro Drüse am Drüsengrund gefunden. Sie können in manchen Schnitten aber auch völlig fehlen. Der Zellkern, der häufig einen deutlichen Nucleolus besitzt, liegt

basal. Auffällig ist ihr blasses Zytoplasma sowie der große, runde, wenig dichte Kern. Lange Mikrovilli mit bulbösen Spitzen überziehen die apikale Zellmembran. Das diffuse rauhe Endoplasmatisches Reticulum enthält wenige Vakuolen. Einige apikal gelegene Vakuolen können möglicherweise dem glatten Endoplasmatischen Reticulum zugeordnet werden. Der Golgi-Apparat oberhalb des Kerns ist gut entwickelt und enthält zahlreiche kleine Vesikel.

Die seltenen argyrophilen Zellen kennzeichnet der Autor lediglich durch eine Vielzahl kleiner, dichter Granula, die das Zytoplasma ausfüllen.

Zusätzlich beschreibt er intermediäre Zelltypen, die Übergangsformen zwischen Basal- und Hauptzellen darstellen könnten (TONER, 1964)

Die Gefäßversorgung des Muskelmagens erfolgt, wie bereits erwähnt, über den Truncus coeliacus. Aus diesem entspringen folgende Arterien, die zum Muskelmagen führen: A. gastrica muscularis sinistra, A. gastrica muscularis dextra, R. gastricus muscularis dorsalis der A. gastrica glandularis dextra, R. gastricus muscularis intermedius der A. gastrica sinistra, R. gastricus muscularis ventralis der A. hepatica sinistra sowie der R. pyloricus der A. hepatica sinistra.

Der Blutabfluß aus dem Muskelmagen erfolgt über V. gastrica muscularis sinistra, V. gastrica muscularis ventralis, V. gastrica muscularis dextra und R. gastricus muscularis dorsalis der V. gastrica glandularis dextra.

Die Arterien und Venen des Muskelmagens bilden ein verzweigtes Netz mit Anastomosen an der Oberfläche des Organs. Von diesem aus ziehen die Hauptarterien durch die Centra tendinea in die Tiefe, während die Venen mehr am Rand des Magens die Wand durchbrechen (NISHIDA et al., 1968).

Alle in diesem Abschnitt erwähnten Autoren beziehen sich, soweit nicht anders erwähnt, auf körnerfressende Vögel. Die Drüsen- und Muskelmägen von fleisch- und vor allem von fischfressenden Vögeln können teilweise erhebliche Abweichungen aufweisen (DUKE, 1986).

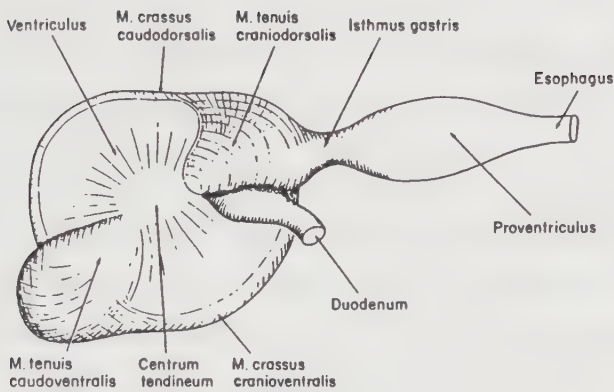


Abb. 1: Magen, Huhn, Seitenansicht, rechte Seite. (McLELLAND, 1979)

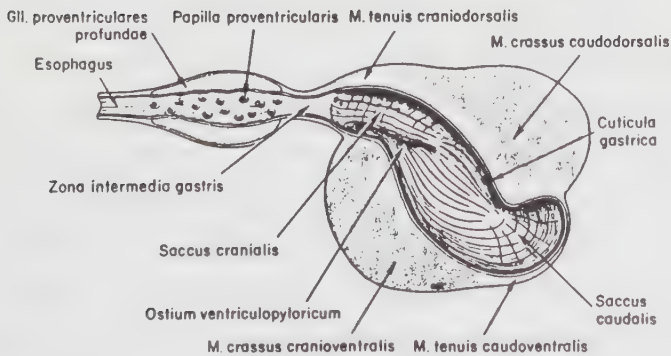


Abb. 2: Magen, Huhn, Innenansicht, rechte Seite (McLELLAND, 1979)

2.2. Lektine

Seit der ersten Entdeckung eines agglutinierenden Pflanzenextrakts (STILLMARK, 1888), wurde die heute als Lektine bezeichnete Stoffgruppe mehrmals neu definiert und benannt. Zunächst wurden sie nach ihrer bekannten Herkunft und Eigenschaft als Hämagglutinine, Phyttagglutinine oder Phytohämagglutinine bezeichnet. Später stellte sich heraus, daß auch Bakterien, Pilze, Flechten, Fischrogen, Invertebraten und sogar Vertebraten bis hin zum Säuger diese Stoffe enthalten. Als man herausfand, daß die Wirkung vieler Hämagglutinine durch einfache Zucker gehemmt wird, nannte man sie kohlenhydratbindende Proteine (GOLDSTEIN und HAYES, 1978). Ihren heutigen Namen prägten BOYD und SHAPLEIGH (1954) nach ihrer Fähigkeit, menschliche Blutgruppen bzw. Zuckermoleküle oder -molekülgruppen zu erkennen (lat. legere. auswählen) (SHARON, 1977, GOLDSTEIN, 1980).

In der neueren Literatur werden sie definiert als kohlenhydratbindende Proteine und Glykoproteine nichtimmunen Ursprungs, welche Zellen agglutinieren und/oder komplexe Kohlenhydrate (Polysaccharide, Glykoproteine, Glykolipide) ausfällen (GOLDSTEIN, 1980, SCHINKO, 1986)

Aufgrund ihrer Fähigkeit, Zuckermoleküle zu erkennen und zu binden, eignen sich markierte Lektine zum histologischen Nachweis von Glykokonjugaten. Diese Glykokonjugate sind Bestandteile von Zell- und Organellmembranen und somit mitverantwortlich für grundlegende Eigenschaften und Funktionen der Zelle. Dazu gehören Wachstum, Teilung, Differenzierung, Sekretion und Absorption, Immunogenität und interzelluläre Kommunikation. Außerdem wird die Transformation der Zelle zur Malignität von Veränderungen an der Zelloberfläche begleitet (SHARON, 1977, ROTH, 1978). Unter den komplexen Kohlenhydraten oder Glykokonjugaten unterscheidet man zwischen Glykoproteinen, Glykolipiden und Proteoglykanen, wobei sich die letzteren durch einen höheren Kohlenhydratanteil, längere

Zuckerketten und andere Zuckermoleküle auszeichnen. Diese bezeichnet man auch als Muzine oder Mucopolysaccharide (BEYER, 1976).

Im Gegensatz zu den Immunglobulinen, mit denen die Lektine in ihren Eigenschaften vergleichbar sind, besitzen diese keine einheitliche Struktur. Sie unterscheiden sich voneinander in ihrer Zusammensetzung, ihrem Molekulargewicht, der Struktur und Anzahl ihrer Untereinheiten sowie der Anzahl an Zuckerbindungsstellen pro Molekül. Viele von ihnen sind Glykoproteine mit einem Kohlenhydratanteil bis zu 51 % (Kartoffel-Lektin). Andere, wie etwa Con A und WGA, sind reine Proteine ohne Zuckeranteil. Die Anzahl der Untereinheiten variiert zwischen zwei (WGA, RCA I), vier (Con A, RCA II) und 18 (Limulus Polyphemus Lektin). Im allgemeinen besteht eine Zuckerbindungsstelle pro Untereinheit; jedoch besitzt z.B. WGA zwei solcher Stellen pro Untereinheit, während SBA zwei Bindungsstellen an vier Untereinheiten besitzt (SHARON und LIS, 1975, LIS und SHARON, 1977, ROTH, 1978). In diesem Zusammenhang wurde auch festgestellt, daß die Bindung von Lektinen an Zelloberflächen und komplexe Glykokonjugate wesentlich stärker ist als an einfache Zucker. Dies erklärt sich aus multivalenten Beziehungen zwischen Lektin und Glykokonjugat (GOLDSTEIN, 1980). Die Molekulargewichte liegen zwischen 34000 (WGA) und ca. 400000 (Limulus Polyphemus Lektin) (BROWN und HUNT, 1978). Einige Lektine sind mit Metallionen, vor allem Mn^{++} , Ca^{++} , Mg^{++} , und Zn^{++} , verbunden (sogenannte Metalloproteine). Die Metallionen sind dabei notwendig zur Ausbildung der Quartärstruktur und somit für die biologische Aktivität des Lektins (GOLDSTEIN, 1980).

Da Lektine sich nicht kovalent, sondern reversibel, das heißt über Wasserstoffbrücken, an die Zucker binden, kommt ihrer räumlichen Struktur entscheidende Bedeutung zu. Sie erst ermöglicht die spezifische Bindung des Lektins an ein bestimmtes Kohlenhydrat. Für die Erkennung des Zuckermoleküls sind dessen Liganden am C_3 und C_4 -Atom besonders

bedeutend. Änderungen am C_2 - Atom dagegen werden häufig geduldet, ohne daß die Bindungsfähigkeit verloren geht (LIENER et al., 1986). Ein mit Mannose reagierendes Lektin (z.B. Con A) wird also nicht mit Galactose reagieren, kann aber, wenn auch schwächer, Glucose oder N- Acetyl- Glucosamin binden. Die N-Acetamidogruppe am C_2 - Atom kann allerdings auch für die Bindungseigenschaften wesentlich sein; z.B. ist SBA N- Acetyl- Galactosamin- spezifisch. Einige Lektine werden durch einfache Zucker in niedriger Konzentration nicht beeinflusst. Für die Hemmung deren Agglutinationsvermögens sind kovalente Zuckersequenzen notwendig (GALLAGHER, 1984).

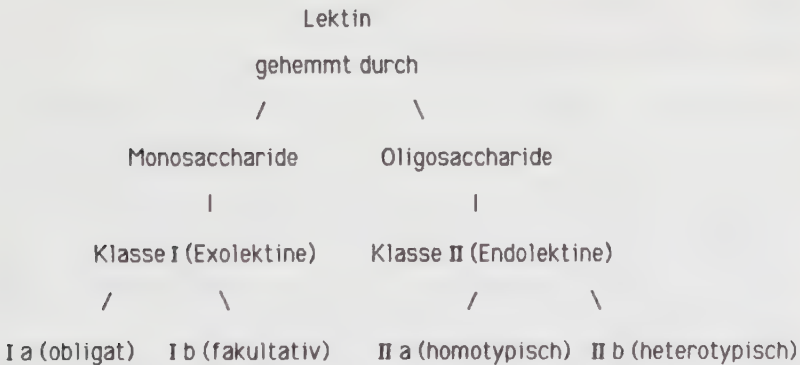
Aufgrund der Art ihrer Bindung ist die Reaktion von Lektinen mit Kohlenhydraten von den physikalischen Versuchsbedingungen abhängig. Neben der Verdünnung des Lektins, der Fixation sowie der Einbettung der Präparate, beeinflussen auch Faktoren wie Temperatur, Inkubationszeit, pH- Wert und Ionenkonzentration die Bindungsfähigkeit (DULANEY, 1979, ROTH, 1983, ALLISON, 1987). Eine weitere Beeinträchtigung der Lektin- bindung kann durch die Markierung des Lektins mit Fluoreszenzfarbstoffen oder HRP sowie auch durch das relativ schlechte Diffusionsvermögen der Lektine erfolgen (ROTH, 1983, ALLISON, 1987).

Die Klassifizierung der Lektine erfolgt gemäß ihrer Spezifität für bestimmte Zuckermoleküle. Das erste Schema erstellte MÄKELÄ (1957), indem er vier Klassen nach der Konfiguration am C_3 - und C_4 - Atom des Zuckermoleküls aufstellte. Später wurde dieses System verfeinert, indem die tatsächliche Spezifität der Lektine, einschließlich der C_2 - Kon- figuration des Zuckers, berücksichtigt wurde. Dabei ergab sich eine Einteilung in sieben Klassen mit Spezifität für D- Mannose (D- Glucose), D- N- Acetyl- Glucosamin, D- N- Acetyl- Galactosamin, D- Galactose, L- Fucose, Sialinsäure sowie für interne Zucker (GOLDSTEIN, 1981).

Eine neuere Einteilung in zwei Klassen stammt von GALLAGHER (1984).

Klasse I beinhaltet alle Lektine, deren Aktivität durch niedrige Konzentrationen einfacher Zucker gehemmt wird. Da sie an endständige, nicht reduzierende Zucker gebunden werden, bezeichnet der Autor sie auch als Exolektine. Weiter unterteilt er sie in obligate und fakultative Exolektine, wobei letztere in der Lage sind, auch nicht endständige (interne) Zucker zu binden. Klasse II- Lektine können nur durch bestimmte Zuckersequenzen gehemmt werden. Sie werden auch als Endolektine bezeichnet. Je nach ihrer Spezifität für gleich- oder verschiedenartige Zuckersequenzen wird zwischen homotypischen und heterotypischen Endolektinen unterschieden.

Daraus ergibt sich folgendes Schema (GALLAGHER, 1984):



Über die physiologische Rolle der Lektine ist bisher wenig bekannt. Es werden einige Möglichkeiten in Erwägung gezogen, die auf in vitro ermittelten, chemischen und physikalischen Eigenschaften basieren: Lektine könnten Transport, Lagerung oder Bindung von Zuckern beeinflussen. Möglicherweise sind sie an der Bindung von Stickstoffbakterien an den Wurzelknöllchen der Leguminosen beteiligt. Weiter wird eine Auslösung von Vorgängen in der Saatkeimung, in der frühen Zellteilung und in der

Differenzierung diskutiert. Andere Vorschläge reichen von Lektinen als Proenzyme (Proteasen ?) bis hin zu einer Schutzfunktion gegenüber pathogenen Einflüssen (GOLDSTEIN, 1980).

Als Anwendungsgebiete für Lektine kommen eine Reihe von Fachrichtungen in Frage, z.B. - Hämatologie: zur Blutgruppentypisierung

- Embryologie: zur Erforschung von Wachstums- und Reifungsvorgängen.

- Biochemie: zum Studium komplexer Glykokonjugate, Spaltung von Zellen und Zellbestandteilen sowie Identifizierung von Zelloberflächenstrukturen

- Medizin: zur mitogenen Stimulierung von Lymphozyten in klinischen und immunologischen Studien sowie zur Bildung lektinresistenter Zellvarianten für die Erforschung der Glykoproteinstruktur und des Zellmetabolismus (GOLDSTEIN, 1980).

Eines der derzeit bedeutendsten Einsatzgebiete ist die Tumorforschung. Dort werden Lektine hauptsächlich zur histologischen Differenzierung zwischen normalen und transformierten Zellen verwendet (SHARON und LIS, 1975, BROWN und HUNT, 1978, ROTH, 1978, LIENER et al., 1986).

Auch im Bereich der histologischen Erforschung des Magen- Darm- Trakts werden seit einiger Zeit Versuche mit Lektinen angestellt

TRIMBLE und THOMPSON (1976) untersuchten das Darmepithel von zwei verschiedenen Nematodenspezies auf Con A- Bindungsstellen, die sie mit Hilfe von Autoradiographie und Lektin- Peroxidase- Färbung nachwiesen. Sie fanden Con A- reaktive Bereiche an den Spitzen und Seiten der Mikrovilli sowie an der Basalmembran. Regionale Unterschiede im Verlauf des Darms waren nicht feststellbar.

GONELLA und NEUTRA (1985) behandelten das Ileum saugender Ratten in vivo und in vitro mit Ferritin- Lektin- Konjugaten. Dabei fanden sie für verschiedene Lektine unterschiedliche Verteilungsmuster. RCA 1- Bindungsstellen waren über die gesamte Apikalmembran der absorbierenden

Ileumzellen verteilt. WGA- Bindung wurde nur an den Mikrovillispitzen reifer Zellen sowie an den Mikrovilli der Epithelzellen niedriger Villi sichtbar. Eine Bindung von Con A und DBA in vivo konnte nicht festgestellt werden. Nach Aldehyd- Fixation beobachteten die Autoren eine drastische Änderung der Lektin- Bindungsmuster. Con A band sich nun an die gesamte apikale Plasmamembran mit Ausnahme der Mikrovillispitzen. DBA besetzte die gesamte Membran einschließlich Mikrovilli und Zellinvaginationen. Bindungsstellen für UEA und Lotus- Lektin konnten weder in vivo noch in vitro nachgewiesen werden. Die Verteilung von RCA I war in beiden Fällen gleich.

ETZLER und BRANSTRATOR (1974) machten Versuche mit Fluorescein-konjugierten Lektinen am Dünndarm erwachsener männlicher Ratten. Sie verwendeten DBA, Lotus- Lektin, RCA I und WGA. Ihre Ergebnisse zeigen eine deutliche Abhängigkeit des Lektin- Bindungsmusters vom untersuchten Darmabschnitt. In Pylorusnähe (bis ca. 15 cm) fanden sie Lotus, RCA I und WGA am mikrovillären Anteil der Epithelzellen entlang der Krypten und Villi. Im mittleren Dünndarm wiesen sie Lotus- und RCA I- Bindungsstellen an der luminalen Oberfläche der Epithelzellen in den Krypten sowie an der Basis der Villi nach. WGA- Bindung war an der Oberfläche der Zellen entlang der Villi feststellbar. Am Ende des Dünndarms banden sich Lotus, RCA I und WGA an die Oberfläche von Zellen in den Krypten und an der Basis der Villi. DBA färbte ca. 25 % der Becherzellen unabhängig vom Darmbereich, während die Becherzellen die übrigen Lektine in Abhängigkeit vom Darmabschnitt banden. Manche Teile der Lamina propria wiesen Fluoreszenz mit RCA I, Lotus und WGA auf.

SATO und SPICER (1982) suchten mit Hilfe der Lektin- Peroxidase- Methode nach PNA- Bindungsstellen am Magenepithel der Maus. Sie verwendeten dazu sowohl die Licht- als auch die Elektronenmikroskopie. Sie beobachteten PNA- Bindung im apikalen Plasmalemm von oberflächlichen

Drüsenzellen, nicht aber in der Tiefe der Drüsen. Ebenfalls positiv waren bei diesen Zellen einige intermediäre Golgi- Zisternen, sowie das von ihnen sezernierte mucöse Sekret. Die Autoren konnten mit diesen Versuchen nachweisen, daß nicht nur oberflächliche, zellmembrangebundene, sondern auch intrazelluläre Strukturen (bestimmte Golgi- Zisternen) mit Hilfe der Lektin- Peroxidase- Technik darstellbar sind.

2.3. Enteroendokrine Zellen

Gezielte Forschung über gastrointestinale Hormone und die sie produzierenden Zellen (Abb. 3) wird seit etwa 15 Jahren betrieben, wenngleich einzelne Substanzen, wie z. B. das Gastrin, bereits seit wesentlich längerer Zeit bekannt sind. Bisher ist noch nicht endgültig geklärt, ob die gefundenen Zellen als Hormonzellen, parakrine Zellen oder Nervenzellen einzuordnen sind. Feststehen dürfte jedoch, daß sie Funktionen ausüben, die, je nach Betrachtungsweise, eine Zuordnung zu allen drei Zelltypen erlauben. Allgemein werden sie nach ihrer Fähigkeit, hormonartig wirkende Amine bzw. Peptide zu bilden, zu den APUD- Zellen (Amine Precursor Uptake and Decarboxylation) gezählt (POLAK et al., 1974). Ihre Eigenschaft, Silber zu binden und teilweise auch zu reduzieren, macht sie zu argyrophilen bzw. argentaffinen Zellen.

Produkte der angesprochenen Zellen sind Peptide oder Amine, welche im Magen- Darm- Trakt, aber auch in anderen Organen wie Lunge, Hirn und Hypophyse gefunden wurden. Sie wirken dort als Neurotransmitter oder Hormone, wobei dasselbe Peptid, je nach Lokalisation, verschiedene Wirkungen haben kann. Zur Zeit sind mindestens zwölf verschiedene gastrointestinale Hormone bekannt, die sich über den gesamten Verdauungskanal verteilen (EYSSELEIN et al., 1983). Hier jedoch sollen nur die Hormone Gastrin, Sekretin, Somatostatin und Substanz P sowie ihr Vorkommen vor allem im Drüsen- und Muskelmagen des Vogels behandelt werden.

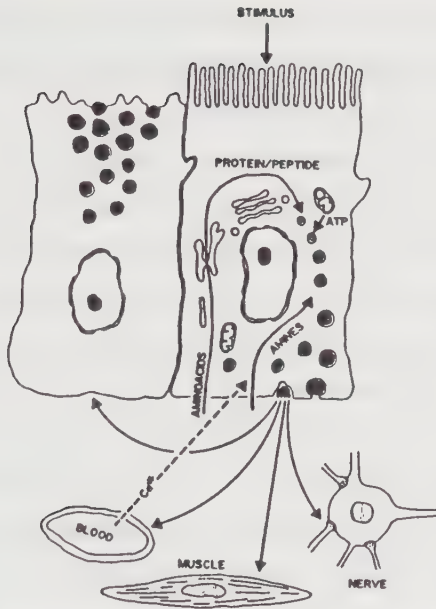


Abb. 3: Endokrine Zelle in der Magenschleimhaut (MILLER et al., 1980)

Gastrin ist das am besten untersuchte Intestinalhormon und wird bei den Säugetieren nach der sogenannten Wiesbaden- Klassifizierung (SOLCIA et al., 1973) den G- Zellen zugeordnet. Diese Zellen sind pyramiden- oder faßförmig und finden sich häufiger im tiefen als im oberflächlichen Teil der Drüsen im Gebiet des Muskelmagenausgangs (YAMADA et al., 1979). Sie erreichen häufig das Drüsenlumen und gehören damit zum offenen Zelltyp. Der lumenseitige Zellrand ist mit Mikrovilli und selten auch mit einem Cilium besetzt. In ihrem Cytoplasma enthalten sie eine große Anzahl von Granula, hauptsächlich apikal des Kerns. Diese Granula sind je nach Tierart sehr unterschiedlich. Beim Vogel sind sie rund und besitzen, im Gegensatz zum Säuger, einen elektronendichten Kern, der von der begrenzenden Membran durch einen elektronenhellen Hof getrennt ist. Ihre Größe beträgt bei der Wachtel 247 ± 45 nm (YAMADA et al., 1979).

Gastrinzellen wurden zuerst durch McGUIGAN (1968) mit Hilfe der direkten Immunofluoreszenz nachgewiesen. Ihre Ultrastruktur bestimmten mit Hilfe von Immunofluoreszenz und Elektronenmikroskopie an semidünnen und ultradünnen Serienschnitten BUSSOLATI und CANESE (1972), sowie CANESE und BUSSOLATI (1974). YAMADA et al. (1979), beschreiben Gastrinzellen beim Vogel im Pylorusgebiet, Duodenum, Jejunum und Ileum, wo sie anhand von Immunocytochemie (PAP- Methode) und Elektronenmikroskopie identifiziert wurden. Die Beobachtungen von OLOWO- OKORUN und AMURE (1973), wonach im Drüsenmagen des Huhns gastrinartige biologische Aktivität nachgewiesen wurde, konnten immunocytochemisch nicht bestätigt werden, ebenso wie der Fund von POLAK et al. (1974), die bei Huhn und Wachtel Gastrinzellen im Muskelmagen und im Caeco- Colon beschrieben. Ähnliche Feststellungen wie YAMADA machten bereits LARSSON et al. (1974) am Huhn. Auch sie fanden Gastrinzellen in großer Anzahl im Pylorusgebiet sowie in geringerem Maße im Duodenum und Jejunum. Von ANDREW (1976) wurden elektronenoptisch zahlreiche G- Zellen im Drüsenmagen und im Pylorusbereich von Küken um die Zeit des Schlüpfens beobachtet. RAWDON und ANDREW (1981) fanden bei Küken der selben Altersstufe Gastrinzellen auf immunocytochemischem Weg nur im Pylorus und im Duodenum. Übereinstimmend stellen die Autoren fest, daß sich Gastrinzellen argyrophil nach der Methode von GRIMELIUS (1968), nicht aber nach HELLERSTRÖM-HELLMANN (1960) färben lassen. Über eine argentaaffine Färbung wird nicht berichtet.

Physiologische Beobachtungen an Säugetieren zeigten eine wachstumsfördernde Wirkung von Gastrin auf das exokrine Pankreas und die Mucosa des Magen- Darm- Trakts. Die Sekretion von HCl nimmt zu. Hohe, unphysiologische Dosen von Gastrin verursachen eine erhöhte Pankreasenzymsekretion, Gallenblasen- und Magenantrummotilität und eine verstärkte Kontraktion des unteren Oesophagus sphinkters. Die Absorption von Wasser und Elektrolyten wird vermindert, ihre Sekretion im Dünndarm

gesteigert (EYSSELEIN et al., 1983).

Die Freisetzung von Gastrin erfolgt auf dem Wege der Exocytose (YAMADA et al., 1980).

Nach ihrer Form und Funktion werden die Gastrinzellen zu den rezeptor-sekretorischen Zellen und damit zu den sogenannten Paraneuronen gezählt (FUJITA, 1976).

Somatostatin ist ein Tetradecapeptid und wurde zuerst im Hypothalamus bei Schaf und Schwein nachgewiesen. Seit seiner Entdeckung (BRAZEAU et al., 1973) zeigte sich, daß Somatostatin eine weite Verbreitung sowohl in Neuronen des zentralen und peripheren Nervensystems als auch in endokrinen Zellen verschiedener Organe hat (MILLER et al., 1980).

Nach übereinstimmender Aussage mehrerer Autoren finden sich Somatostatinzellen beim Vogel in großer Anzahl im Pylorusbereich, etwas weniger im Drüsenmagen und vereinzelt im Duodenum (ANDREW, 1976, ALUMETS et al., 1977, RAWDON und ANDREW, 1981, YAMADA et al., 1985, YAMAGUCHI et al., 1986). RAWDON und ANDREW beschreiben zusätzlich vereinzelte Zellen im oberen und unteren Ileum. Im Muskelmagen sowie distal des Ileums wurden keine Somatostatinzellen gefunden. Elektronenmikroskopische Untersuchungen (ANDREW, 1976, ALUMETS et al., 1977, YAMADA et al., 1978, HODGES, 1981) ergaben, daß diese Zellen den D-Zellen (Somatostatinzellen) der Säuger ultrastrukturell entsprechen. Ihre Granula haben, mit leichten tierartlichen Abweichungen, einen Durchmesser von etwa 300 nm. Sie sind rund, von variabler Elektronendichte und besitzen eine anliegende, häufig unterbrochene Grenzmembran (ANDREW, 1976). Die Zellen selbst besitzen schmale zytoplasmatische Fortsätze mit knopfartigen Auftreibungen an deren Enden. Damit treten sie mit angrenzenden Zellen in Verbindung und nutzen so, neben der Sekretion von Somatostatin, eine weitere Möglichkeit der Kommunikation (ALUMETS et al., 1979). Im Drüsenmagen wird auf diese Weise ein Geflecht mit

synapsenartigen Verbindungen hergestellt, das möglicherweise als Dehnungsrezeptor wirken könnte (IWANAGA und YAMADA, 1980).

Somatostatinzellen liegen im Drüsenmagen sowohl in den oberflächlichen (vor allem in deren tiefen Abschnitt) als auch in den tiefen Drüsen (bei der Wachtel in deren mittlerem Abschnitt) (YAMADA et al., 1985). Sie sind hier vom geschlossenen Typ. Im Pylorusgebiet liegen sie im oberen Teil der Magendrüsen (YAMADA et al., 1978) und sind, ebenso wie im Duodenum, vom offenen Typ (ALUMETS et al., 1977).

Die Wirkungen des Somatostatins sind, je nach Erfolgsorgan, außerordentlich vielfältig. Im Magen- Darm- Trakt vermindert es die Ausschüttung von Gastrin, Säure, Pepsin, Secretin, Cholecystokinin, Vasoactive Intestinal Polypeptide und Gastric Inhibitory Polypeptide und stellt die glatte Muskulatur ruhig. Durch sein Vorkommen in neuronalen und endokrinen Zellen ist es an der Regulierung praktisch aller Funktionen des Verdauungstrakts beteiligt. Seine Wirkungsweise kann neuronal, endokrin sowie auch parakrin sein (MILLER et al., 1980, EYSSELEIN et al., 1983).

Über den Nachweis von Sekretin im Magen des Vogels existieren widersprüchliche Angaben. So fanden IWANAGA und YAMADA (1980) im Drüsenmagen des Huhns Zellen, die in ihrer Ultrastruktur den S-(Sekretin-)Zellen der Säugetiere entsprechen. Diese Zellen vom geschlossenen Typ liegen eng der Basalmembran an und sind möglicherweise an der Bildung eines Netzes von endokrinen Zellen beteiligt, das als Dehnungsrezeptor im Drüsenmagen wirken könnte. Ihre Granula haben einen Durchmesser von 150 - 250 nm und besitzen einen elektronendichten Kern, der von einer Grenzmembran umgeben ist. YAMADA et al.(1978) beschrieben nach elektronenmikroskopischen Untersuchungen S-Zellen im Pylorusbereich der Wachtel. Diese sind vom offenen Typ und besitzen elektronendichte Granula mit einer Grenzmembran um einen schmalen Hof. Die Granula befinden sich hauptsächlich im Bereich basal des Kerns.

Manchmal wurde ein Lipidtröpfchen im Cytoplasma gefunden. Diese Zellen liegen vorwiegend in der unteren Hälfte der Pylorusdrüsen. Andere Autoren konnten im Vogelmagen keine Sekretinzellen nachweisen: POLAK et al. (1974) fanden mit Sekretin- Antiserum reagierende Zellen im Duodenum und im oberen Teil des Jejunums. Nach HAZELWOOD (1980) kommen sie im Duodenum vor und RAWDON und ANDREW (1981) beschrieben sie im Mittelteil des Duodenums sowie in der Nähe des Pylorus.

Als Wirkung des Sekretins wird eine Stimulierung der Sekretion von Pankreasflüssigkeit und -bicarbonat angegeben. Es gilt als Antacidum, das für die Neutralisierung der ins Duodenum übertretenden Magensäure sorgt. Außerdem wurde eine verstärkte Sekretion von Pankreasenzym und Galle sowie eine höhere Motilität der Gallenblase nach Sekretingabe beobachtet. Sekretin gilt als echtes Darmhormon (EYSSELEIN, 1983).

Substanz P gehört zu einer Familie von Peptiden (Tachykininen), die zunächst aus der Haut von Amphibien isoliert wurden (ERSPAMER et al., 1977). Es kommt, im Gegensatz zum Säuger, beim Vogel nicht nur in Nerven des Gehirns, Rückenmarks und Verdauungstrakts (EYSSELEIN et al., 1983, TANGE, 1983) vor, sondern auch in endokrinen Zellen des Magen- Darm-Trakts.

Besonders häufig sind solche Zellen nach RAWDON und ANDREW (1981) im mittleren Teil des Duodenums, wo sie den bei weitem größten Anteil an endokrinen Zellen ausmachen. Weiter finden sich Substanz P- Zellen auch im pylorusnahen Duodenum, Jejunum, Ileum, Colon und den Caeca (BRODIN et al., 1981, RAWDON und ANDREW, 1981). BRODIN et al. (1981) stießen als bislang einzige auch im Drüsenmagen des Huhns auf Zellen, die mit Substanz P- Antiserum reagierten. Sie führen dies jedoch selbst auf eine Kreuzreaktion mit dem strukturell verwandten Magenhormon Bombesin zurück. Vorinkubation des Serums mit Bombesin unterdrückte die Färbung der Zellen im Drüsenmagen, nicht aber in den übrigen Teilen des Darms.

Nach MILLER et al. (1980) und EYSSELEIN et al. (1983) spielt Substanz P eine Rolle als Neurotransmitter bzw Neuromodulator im Gehirn und Rückenmark sowie auch in den Auerbachschen und Meißnerschen Plexus des Magen- Darm- Trakts. BRODIN et al (1981) fanden heraus, daß Substanz P an der glatten Muskulatur des isolierten Caecums Kontraktionen verursacht. Über endokrine Funktionen und Wirkungsweisen liegen, ebenso wie über die genaue Lage der Zellen und ihre Ultrastruktur, noch keine Untersuchungsergebnisse vor.

2.4. Endogene Opiode

Bereits seit geraumer Zeit ist die Wirkung von Opiaten und Morphinen im Organismus als Rauschmittel und Analgetika bekannt. Seit der Entdeckung der Opiatrezeptoren (PERT u. SNYDER, 1973, TERENIUS, 1973) wurde intensiv nach endogenen Aktivatoren dieser Rezeptoren gesucht. Bereits HUGHES et al. (1975) identifizierten zwei Pentapeptide mit opiatartiger Wirkung in der Hypophyse des Schweins:

[Met]- Enkephalin (Tyr-Gly-Gly-Phe-Met) und

[Leu]- Enkephalin (Tyr-Gly-Gly-Phe-Leu).

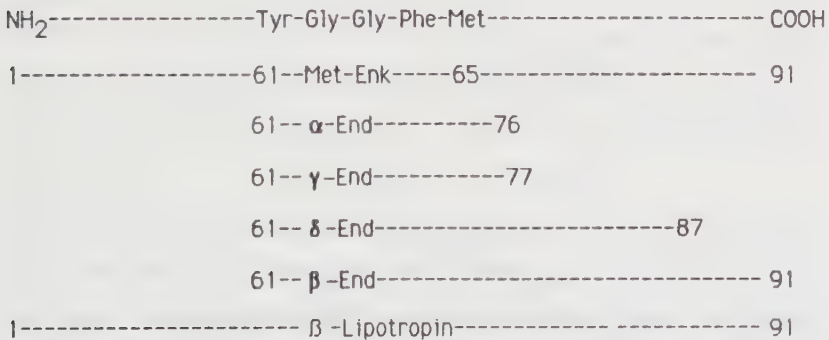
Seither wurde eine Anzahl weiterer Peptide mit teilweise bedeutend stärkerer opiatartiger Wirkung in Hypophyse, Gehirn und vielen anderen Organen entdeckt. All diesen Substanzen ist gemeinsam, daß sie an ihrem N- terminalen Ende die Sequenz von [Met]- Enkephalin oder [Leu]- Enkephalin enthalten.

Die Synthese der Opioidpeptide erfolgt durch enzymatische Spaltung eines Vorläufer- Moleküls (Precursors) im Golgi- Apparat oder in Vesikeln. Dieser Vorgang wird als processing oder posttranslationale Modifikation bezeichnet. Je nach Zelltyp, Organ und Tierspezies können aus demselben Precursor verschiedene Opioidpeptide gebildet werden. Bisher sind drei verschiedene Precursor-Moleküle bekannt, die in ihrer Aminosäuresequenz

die Sequenzen aller bislang entdeckten endogenen Opioiden teilweise mehrfach enthalten. Diese sind die Grundlage für eine Einteilung in drei Opioidfamilien (SEIZINGER, 1983; NUMA, 1984):

1. Proopiomelanocortin (auch ACTH- β - LPH): enthält β - Endorphin sowie ACTH und Lipotropin.
2. Proenkephalin A (auch Proendorphin): enthält alle [Met]- Enkephaline außer β - Endorphin sowie [Leu]- Enkephalin.
3. Proenkephalin B (auch Prodynorphin oder Pronorphin): enthält alle [Leu]- Enkephaline wie Dynorphin A (Dynorphin), Dynorphin B (Rimorphin), α - und β - Neoendorphin.

Aufstellung einiger [Met]-Enkephaline (ohne Berücksichtigung ihrer Herkunft) (PRETZLAFF, 1984):



Die physiologischen Funktionen der endogenen Opioiden sind bislang nicht völlig geklärt. Ihre Erforschung wird durch die Tatsache erschwert, daß, unter bestimmten Voraussetzungen und in genügender Konzentration, jedes Opioid jeden Rezeptor aktivieren und damit jede Wirkung erzeugen kann (GOLDSTEIN, 1984). Dennoch können einige Aussagen über die Wirksamkeit der Opioidpeptide gemacht werden: Sie wirken als Neurotransmitter bzw.

Neuromodulatoren im neuroendokrinen System und hierbei gewissermaßen als Vermittler zwischen den beiden körpereigenen Kommunikationssystemen Endokrinium und Nervensystem. Sie können sich hormonartig oder transmitterartig verhalten (UDENFRIEND und KILPATRICK, 1984). An einzelnen Organen können sie bestimmte Wirkungen auslösen.

- Magen- Darm- Trakt: Ruhigstellung der glatten Muskulatur durch Senkung des ACTH-Spiegels (PRETZLAFF, 1984).

Kontraktion von isolierten Magenmuskelzellen durch direkte Beeinflussung (BITAR und MAKHLOUF, 1982).

- Nebennierenmark: Steuerung der Ausschüttung von Katecholaminen (KONDO et al., 1984).
- Pankreas: Steuerung der Ausschüttung von Glucagon und Insulin (Vorkommen in α - Zellen) (GRUBE et al., 1978; CETIN, 1985) sowie von Somatostatin (Vorkommen in D- Zellen) (WATKINS et al., 1980)
- Gehirn und Hypophyse: Steuerung der Ausschüttung von Prolactin, Wachstumshormon, LHRH, Vasopressin.

Störungen im psychomotorischen Verhalten (Katalepsie), Verhaltensphänomene.

Durch Zusammenspiel der Wirkungen im ZNS und in peripheren Organen erfolgt eine koordinierte Reaktion auf bestimmte Streßzustände: Blutdruck, Herzfrequenz und Atmung werden reduziert, Schmerzen durch die analgetische Wirkung gelindert, andere hormonale Komponenten der Streßreaktion (Katecholamine, Vasopressin) werden gesteuert.

Bisher wurden endogene Opiode beim Menschen und bei verschiedenen Tierarten in einer ganzen Reihe von Organen nachgewiesen:

- β - Endorphin: Magen- Darm- Trakt, Pankreas, Placenta, Schilddrüse, Mastzellen, männl. Geschlechtsapparat, ZNS
- Dynorphinpeptide: Magen- Darm- Trakt, Pankreas, Herz, Lunge, Skelettmuskel, Ovar, Leber, Niere, Testis, ZNS (GOLDSTEIN, 1983).

Besondere Untersuchungen wurden über die endogenen Opiode im Magen-Darm-Trakt angestellt.

So beschreiben PÓLAK et al. (1977) [Met]- Enkephalin immunoreaktive Zellen in der Antrummucosa, der Duodenalmucosa sowie im Plexus myentericus der Gallenblase, des Gallenganges und weiteren Gebieten des unteren Darmtrakts beim Menschen. Sie nehmen an, daß die Tätigkeit des Magen- Darm- Traktes teilweise durch lokal wirkende Hormone - zu denen auch Enkephalin gehören könnte - reguliert wird.

BITAR und MAKHLOUF (1982) entdeckten , daß [Met]- und [Leu]- Enkephalin sowie in verstärktem Maße Dynorphin Kontraktionen an isolierten Muskelzellen des Meerschweinchenmagens auslösen. Zusammen mit der schon früher gemachten Feststellung, daß Opiate den Darm ruhigstellen, ergibt sich daraus ein direkter excitatorischer und ein indirekter inhibitorischer Reiz für Opioidpeptide im Magen- Darm- Trakt.

SPAMPINATO und GOLDSTEIN (1983) fanden Enkephalin- immunoreaktive Zellen in fast allen Teilen des Darms, sowohl in Nerven- als auch in endokrinen Zellen. Sie vermuten, daß diese Peptide auch in der Sekretionstätigkeit mancher Verdauungsdrüsen eine Rolle spielen.

CETIN (1985) beobachtete das gleichzeitige Vorkommen von β - Neendorphin, Dynorphin und α - Endorphin in α - (Glucagon-) Zellen im Pankreas der Ratte. Er beschreibt damit als erster die Koexistenz von Opioidpeptiden verschiedener Familien innerhalb einer Zelle.

GRUBE (1980) konnte im Colon des Hundes eine positive Reaktion von Plasmazellen auf α - Endorphine nachweisen. Obwohl dabei mit einem hochspezifischen Serum unter Anwendung aller Kontrollversuche gearbeitet wurde, betrachtet GRUBE (1980) sein Ergebnis als unwahrscheinlich und interpretiert es als Kreuzreaktion seines Serums mit einem unbekannten Immunoglobulin. Er empfiehlt große Vorsicht bei der Interpretation von

Ergebnissen der Immunocytochemie, auch wenn diese scheinbar gut abgesichert sind. Ähnliche Vorbehalte gegenüber dieser Methode hat auch GOLDSTEIN (1984), welcher die teilweise große strukturelle Ähnlichkeit zwischen den einzelnen Opioiden sowie ihren Precursors als Unsicherheitsfaktor ansieht.

Schließlich erwähnen UDENFRIEND und KILPATRICK (1984) die Möglichkeit, daß bei Vögeln der physiologische Vorgang des Processing anders verlaufen könnte als beim Säuger. Dadurch könnten andere Produkte gebildet werden und somit zusätzliche Möglichkeiten für Kreuzreaktionen mit im Säuger gebildeten Antikörpern auftreten.

3. MATERIAL UND METHODEN

3.1 Material

Als Versuchstiere dienten 30 Wachteln beiderlei Geschlechts der Rasse *Coturnix coturnix japonica* aus dem Physiologischen Institut der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität München. Ihr Alter betrug zum Zeitpunkt der Organentnahme zwischen zwei und elf Monate. Die Vögel erhielten Futter und Wasser ad libitum.

Zum Nachweis der Magen hormone wurden folgende MILAB ICC-Kits (Fa. Malmö Immunolaboratorium AB, Malmö, Schweden), verwendet:

Somatostatin, Gastrin, Sekretin und Substanz P, jeweils mit primären Antikörpern vom Kaninchen, Brückenantikörpern von der Ziege sowie Peroxidase- Antiperoxidase- Komplexen vom Kaninchen.

Die verwendeten Antikörper gegen endogene Opiode wurden von Herrn Prof. Dr. Schulz, Pharmakologisches Institut, Veterinärmedizinische Fakultät, München, zur Verfügung gestellt. Es handelte sich dabei um Kaninchen-antikörper gegen α - Neoendorphin, Dynorphin 1-17 sowie β - Endorphin, die in einer Verdünnung von 1:100 zur Ausgangskonzentration angewendet wurden. Brückenantikörper und PAP- Komplex stammten von der Fa. Malmö Immunolaboratorium, Malmö, Schweden.

Die in Tabelle 1 angeführten Lektine wurden von der Fa. E-Y Laboratories, San Mateo, California, bezogen. Ihre Ausgangskonzentration betrug 1 μ g Protein/ ml. Die Lektine waren entweder mit Fluorescein-Isothiocyanat (FITC) oder mit Meerrettich-Peroxidase (HRP) markiert.

Tabelle 1: Lektine

Klassifizierung	Lektin	Herkunft	Spezifität	Molekulargew.	Marker
Glc-Man-Gruppe	Con A	Canavalia ensiformis	α -Man $\rightarrow$ α Glc $\rightarrow$ α -GlcNAc	104000	FITC, HRP
GlcNAc-Gruppe	WGA	Triticum vulgare	GlcNAc(β -1,4GlcNAc) $_1$ -2 $\rightarrow$ β -GlcNAc $\rightarrow$ Neu5Ac	36000	FITC, HRP
	UEA-2	Ulex europaeus	L-Fuc-1,2Gal β -1,4GlcNAc $\rightarrow$ GlcNAc(β -1,4GlcNAc) $_1$ -3	n.b.	FITC
	GS-2	Griffonia simplicifolia	α - und β -GlcNAc	113000	FITC
GalNAc-Gruppe	DBA	Dolichos biflorus	GalNAc α -GalNAc $\rightarrow$ α -GalNAc	113000	FITC, HRP
	HPA	Helix pomatia	GalNAc α -GalNAc $\rightarrow$ α -GalNAc	79000	FITC
	SBA	Glycine max.	α - und β -GalNAc $\rightarrow$ α - und β -Gal	120000	FITC, HRP
	MFA	Maclura pomifera	α -GalNAc $\rightarrow$ α -Gal	n.b.	FITC
	GS-1	Griffonia simplicifolia	α -GalNAc $\rightarrow$ α -Gal	114000	FITC
	PNA	Arachis hypogaea	Gal β -1,3GalNAc $\rightarrow$ α - und β -Gal	110000	FITC, HRP
Gal-Gruppe	RCA-1	Ricinus communis	β - und α -Gal $\rightarrow$ GalNAc	60000	FITC, HRP
	RCA-2	Ricinus communis	β -Gal $\rightarrow$ α -Gal $\rightarrow$ GalNAc	120000	FITC
Fuc-Gruppe	UEA-1	Ulex europaeus	α -L-fuc	ca. 50000	FITC, HRP

Glc: Glucose, Gal: Galactose, Fuc: Fucose, Man: Mannose, Neu: Neuraminsäure

GlcNAc: N- Acetyl- Glucosamin, GalNAc: N- Acetyl- Galactosamin

n.b.: nicht bestimmt

3.2 Methoden

Die Wachteln wurden durch intramuskuläre Injektion von 1 ml Narcoren getötet. Die zur Perfusion bestimmten Tiere erhielten 15 Min. vor der Tötung eine Injektion mit Heparin (0,5 ml Liquemin®). Unmittelbar nach Eintritt des Todes wurde das Cavum pleuroperitoneale eröffnet. Anschließend wurden der Drüsen- und der Muskelmagen entnommen. Bei einigen Tieren wurde vorher eine Perfusion über die linke Herzkammer vorgenommen. Die Mägen von insgesamt 30 Wachteln wurden nach den in Tabelle 2 angegebenen Methoden fixiert und eingebettet.

Tabelle 2: Fixierung und Einbettung:

Anzahl	Fixierung	Fixiermittel	Einbettung
15	Immersion	Bouin'sche Lösung	Paraplast
3	Perfusion (von Hand)	Bouin'sche Lösung	Paraplast
3	Perfusion (von Hand)	Karnovsky	Araldit
7	Perfusion (von Hand)	Glutaraldehyd 2,5%	Araldit
2	Perfusion (Perfusionspumpe)	Glutaraldehyd 2,5%	Araldit

Die Bouin-Immersion und Paraplast-Einbettung wurde nach folgendem Schema durchgeführt:

- Bouin'sche Lösung: 24 h
- 50% oder 70% Äthanol: 60 h unter mehrmaligem Wechseln
- 70% Äthanol: 24 h

Die weitere Entwässerung bis zur Einbettung in Paraplast erfolgte in einem Einbettungsautomaten Shandon Duplex Processor:

- 80% Äthanol: 2 x 2 h
- 96% Äthanol: 2 x 2 h
- 100% Isopropanol: 2 x 2 h
- Xylol: 3 x 2 h

- Paraplast: 3 x 2 h

Die Objekte wurden in einem Histostat Tissue Embedding Center der Firma Reichert-Jung ausgegossen.

Zur Araldit-Einbettung wurden folgende zwei Verfahren angewendet.

- | | | | |
|-----------------------|-----------|-------------------------------|----------------|
| - Karnovsky: | 4 h | - Glutaraldehyd 2,5%: | 14 h |
| - Cacodylatpuffer: | 14 h | - Cacodylatpuffer: | 24 h |
| pH: 7,4 | | - Osmiumsäure 1%: | 2 h |
| - Cacodylatpuffer: | 4 Tage | (Nachfixierung) | |
| - Cacodylatpuffer: | 7 Tage | - Cacodylatpuffer: | 24 h |
| - Osmiumsäure 1%: | 2 h | - Äthanol 70 %: | 2x10 Min. 0°C |
| (Nachfixierung) | | | |
| - Aceton 50 %: | 2x30 Min. | - Äthanol 90 %: | 2x10 Min. 0°C |
| - Aceton 70 %: | 2x30 Min. | - Äthanol 96 %: | 2x10 Min. 0°C |
| - Aceton 90 %: | 2x30 Min. | - Äthanol 96 %: | 2x10 Min. 20°C |
| - Aceton 100 %: | 4x30 Min. | | 2x15 Min. 20°C |
| - Aceton/Araldit 3:1: | 12 h | - Propylenoxid/Araldit 50:50: | |
| - Aceton/Araldit 1:1: | 12 h | | 2x30 Min. 20°C |
| - Aceton/Araldit 1:2: | 12 h | - Propylenoxid/Araldit 30:70: | |
| - Araldit: | >24 h | | 2x30 Min. 20°C |
| | | - Araldit: | über Nacht |

- Polymerisation bei beiden Methoden: bei 37°C, über Nacht

Die Aralditblöckchen wurden unter der Stereolupe zugespitzt und auf einem LKB Ultratome III semidünn (1 µm) geschnitten. Die Semidünnschnitte wurden zur Auswertung 30 Sek. mit Methylenblau gefärbt.

Die Paraplastblöcke wurden mit einem Mikrotom 1512 bzw. 1516 der Firma Leitz 4 µm dick geschnitten und folgenden Färbungen unterzogen (Methoden nach Romeis, 1968): Hämatoxylin/Eosin, Alcianblau, Masson/Goldner, PAS, Calleja, Azan und Resorcin/Fuchsin sowie die Silberimprägnierung nach Bodian.

Für den Nachweis der Lektinbindungsstellen wurden die direkte Fluoreszenz- und die direkte Peroxidase- Methode angewendet.

1. Rehydrierung der Schnitte bis 70% Alkohol
2. 10% Methanol (Inaktivierung der endogenen Peroxidase; nur bei Peroxidase- Methode), 20 Min.
3. Waschen mit aqua dest.
4. PBS (Phosphate Buffered Saline), 0,01 M, pH 6,8, 5 Min.
5. Inkubation mit Lektin- FITC oder Lektin- Peroxidase, 30 Min.
6. Drei mal waschen in PBS
7. Inkubation mit Diaminobenzidin (0,5 mg/ml + 150 μ l/ml 1% H_2O_2), 10 Min., nur bei Peroxidase- Methode
8. Drei mal waschen in PBS
9. Aufsteigende Alkoholreihe, Xylol, eindeckeln mit Eukitt (Peroxidase) bzw. Fluorostab (FITC)

Alle Inkubationen wurden in einer feuchten Kammer durchgeführt. Die Lektin- Glykokonjugatbindung wurde mit verschiedenen Lektinkonzentrationen versucht. Die höchste noch positive Verdünnung wurde zur Auswertung verwendet.

Kontrollen:

Bei beiden Methoden wurde als Kontrolle die kompetitive Hemmung mit dem für das jeweilige Lektin spezifischen Zucker angewandt. Bei der Peroxidase- Methode wurden außerdem folgende Kontrollversuche gemacht:

- Weglassen des Lektins
- Hemmung der endogenen Peroxidase mit alternativ
 - a. 10% Methanol, 20 Min.
 - b. 3% H_2O_2 , 20 Min.
 - c. 200 ml Methanol + 50 ml 3% H_2O_2
 - d. 100 ml Methanol + 0,2 ml 100% HCl

- Nachweis der endogenen Peroxidase ohne Methanol, ohne Lektin, mit Diaminobenzidin.

Zum Nachweis der Hormone und der endogenen Opiode diente die immunocytochemische Methode der indirekten Peroxidase- Markierung mit einem Peroxidase- Antiperoxidase- Komplex (PAP- Methode nach STERN- BERGER, 1979). Die Färbung wurde nach der Arbeitsanleitung der Milab- ICC- Kits durchgeführt:

1. Entparaffinieren in Xylol	2 x 5 Min.	15. Trocknen	
2. 100% Äthanol	2 x 5 Min.	16. Brückenantikörper	30 Min.
3. 96% Äthanol	5 Min.	17. Triton TBS	2 x 10 Min.
4. Trocknen		18. Trocknen	
5. 1% H ₂ O ₂ in 75% Methanol	20 Min.	19. PAP- Komplex	30 Min.
6. 70% Äthanol	5 Min.	20. Tris- Puffer	2 x 10 Min.
7. Triton TBS	15 Min.	21. Trocknen	
8. Trocknen		22. Substratlösung	40 Min.
9. Rinderserumalbumin	20 Min.	23. Aqua dest.	2 x 5 Min.
10. Triton TBS	2 x 10 Min.	24. 70% Äthanol	5 Min.
11. trocknen		25. 96% Äthanol	5 Min.
12. Primärer Antikörper	über Nacht	26. 100% Äthanol	5 Min.
Negativkontrolle	bei 4°C	27. Xylol	5 Min.
13. Raumtemperatur	30 Min.	28. Einbetten in Eukitt	
14. Triton TBS	2 x 10 Min.		

Tris- Puffer: 0,05 M, pH 7,6 ± 0,1

TBS: Tris Buffered Saline: 0,05 M Tris, pH 7,6 + 0,15 M NaCl

Triton TBS: TBS + 0,25 % Triton X- 100

Sämtliche lichtmikroskopischen Präparate wurden an einem Dialux 20 - Mikroskop der Firma Leitz ausgewertet. Die fotografische Dokumentation erfolgte auf Kodak Tri-X-Pan- Filmen (Fluoreszenz) bzw. Agfapan 25- Filmen mit Hilfe eines Belichtungsautomaten Leitz Vario- Orthomat.

Für die Elektronenmikroskopie wurden die in der Semidünnschnittechnik verwendeten Blöcke weiter zugespitzt und mit einem Ultratom E, Type 701704, der Firma Reichert-Jung, ultradünn (50 nm) geschnitten. Die Schnitte wurden auf Kupfernetze aufgefangen und anschließend in einem LKB Ultrastainer 2168 mit Uranylacetat und Bleicitrat kontrastiert. Die Auswertung erfolgte an einem Elektronenmikroskop EM 902 der Firma Zeiss.

4. ERGEBNISSE

4.1. Lichtmikroskopische Untersuchungen

4.1.1. Übersichtsfärbungen

4.1.1.1. Drüsenmagen

Die Wand des Drüsenmagens (Abb. 4, 5, 6) ist aus Tunica mucosa, Tunica submucosa, Tunica muscularis und Tunica serosa aufgebaut. Die oberflächlichen Propriadrüsen treten nach einem abrupten Übergang von der cutanen Schleimhaut des Oesophagus in die echte Schleimhaut des Drüsenmagens in Erscheinung. Ihr Epithel ist am Drüsengrund iso- bis leicht hochprismatisch und nimmt zur Oberfläche hin an Höhe zu. Das Sekret der oberflächlichen Drüsen ist basophil, die Drüsenzellen sind in ihrem apikalen Bereich schwach basophil granuliert. Die Zellkerne liegen basal und besitzen eine ovale Form. Die Zellen des Drüsenepithels reagieren in ihrem apikalen Teil blau mit Azan und positiv mit Alcianblau und PAS. Da die Zellen bei der Färbung mit Alcianblau im Verlauf der Drüsen gruppenweise stärker und schwächer angefärbt werden, ergibt sich hier ein streifiges Aussehen der Tubuli. Mit denselben Farbstoffen reagiert das gebildete Sekret in gleicher Weise wie die Zellapices.

Die tiefen Propriadrüsen bestehen aus läppchenförmig angeordneten Drüsenschläuchen, welche über Sammelräume und Ausführungsgänge ins Magenlumen münden. Zwischen den Drüsenläppchen befinden sich relativ kräftige Bindegewebssepten, in denen zahlreiche Gefäße verlaufen, ebenso wie in der Lamina propria mucosae zwischen oberflächlichen und tiefen Drüsen sowie außerhalb der tiefen Drüsen. Das Drüsenepithel ist aus leicht hochprismatischen Zellen zusammengesetzt, deren abgerundete Spitze frei ins Lumen ragt. Die Zellkerne sind rund, mit deutlichem Nucleolus und

liegen basal oder zentral. Auffällig ist, daß sich diese Zellen bei der Azanfärbung basal orange, apikal dagegen kräftig rot färben. Ausläufer der tiefen Propriadrüsen können auch noch in der cutanen Schleimhaut des Oesophagus beobachtet werden. Im Gewebe der tiefen Drüsen wurden bei der Silberimprägnierung nach BODIAN zahlreiche argyrophile Zellen sowie die Anschnitte feiner BODIAN- positiver Fasern gefunden.

Das Epithel der Sammelräume ist hochprismatisch, blaß, und besitzt zentral gelegene Kerne. Seine apikalen Zellmembranen färben sich blau bei der Färbung mit Azan und Alcianblau. Bei der PAS- reaktion sind sie negativ.

Unter den tiefen Propriadrüsen befindet sich eine relativ kräftige Lamina muscularis mucosae, eine sehr schwache Tunica submucosa sowie eine zweischichtige Tunica muscularis, deren innere, zirkuläre Schicht die weitaus stärkere ist. Von der Lamina muscularis mucosae ziehen keine Fasern zwischen die Drüsenläppchen, doch ist sie im Bereich der Bindegewebssepten etwas verdickt. Zwischen den beiden Lagen der Tunica muscularis und diese teilweise durchbrechend finden sich zahlreiche Gefäße unterschiedlichen Durchmessers. Weiter liegen dort die Ganglien und Nervenfasern eines ausgeprägten Plexus myentericus, welche sich mit Silberimprägnierung gut darstellen lassen.

Eine sehr feine, zarte Tunica serosa bildet den äußeren Abschluß des Organs.

4.1.1.2. Muskelmagen

Der histologische Schnitt des Muskelmagens (Abb. 7, 8, 9) zeigt eine ungleichmäßig gefärbte Keratinoidschicht, eine Schicht von einfachen tubulösen Drüsen sowie eine, je nach Präparat, unterschiedlich dicke Muskelschicht, umgeben von einer relativ kräftigen Tunica serosa.

Die typische Struktur des Keratinoids mit Säulen und Matrix ist an manchen

Stellen deutlich erkennbar. Andere Abschnitte haben ein ungeordnetes Aussehen ohne ausgeprägte Struktur. Auch in der Färbbarkeit verhält sich diese Substanz uneinheitlich. So wechseln im HE- gefärbten Schnitt unregelmäßig begrenzte bläuliche, rote und ungefärbte Bereiche miteinander ab. Bei der Azan- färbung ist das Sekret innerhalb der Drüsen- schläuche kräftig rot. An der Oberfläche variiert es von rot über farblos bis blau. Dabei sind die Säulen intensiver rot gefärbt als die Matrix. Des weiteren ist das Keratinoid in den Drüsen deutlich PAS- positiv, während sich an der Oberfläche positive und negative Bereiche abwechseln. Alcianblau verursacht am Drüsengrund schwach beginnende und zur Ober- fläche hin zunehmende Blaufärbung. Bei Trichromfärbung nach MASSON- GOLDNER sind grüne, ungefärbte und leuchtend orange Abschnitte unregelmäßig verteilt.

Die unter der Keratinoidschicht liegenden Drüsenschläuche sind in Gruppen von je 10 bis 20 zusammengefaßt. Dies ist besonders gut an quer geschnit- tenen Drüsen zu erkennen. Ihr Epithel ist am Grund leicht hochprismatisch und wird in der Nähe der Oberfläche niedriger. Tubuli, die mit Sekret ausgefüllt sind, tragen ein flaches Epithel. Die Zellkerne liegen basal und besitzen einen deutlich sichtbaren Nucleolus. Seitlich sind die Zell- membranen dicht aneinandergesetzt. In der Azanfärbung ist das apikale Zytoplasma, im Gegensatz zum Keratinoid, blaß- bläulich, mit Alcianblau und bei der PAS- Reaktion zeigt es eine vom Drüsengrund zur Mündung zunehmend positive Reaktion.

Die Zellen des Oberflächenepithels sind wesentlich höher als die Drüsenepithelzellen. Auffällig ist eine stark basophile, streifenförmige Färbung des Zytoplasmas direkt unter der Apikalmembran.

Die Lamina propria mucosae und die Tunica submucosa können am Muskelmagen aufgrund der fehlenden Lamina muscularis mucosae nicht eindeutig unterschieden werden. Das Bindegewebe ist von Gefäßen verschiedener Größe durchzogen, in deren Nachbarschaft sich Nervenzellen

und dünne Fasern mit Silberimprägnierung darstellen lassen (Plexus mucosus und submucosus).

Die Tunica muscularis besteht im Bereich der Musculi laterales aus einer, im Bereich der Musculi intermedii dagegen aus zwei Schichten. Bei letzteren tritt eine zusätzliche, dünne, innere Schicht auf. Die Muskeln sind von unterschiedlich starken Septen durchzogen, die die Muskulatur in einzelne Bündel unterteilen. In diesen Septen verlaufen zahlreiche, teilweise sehr große Gefäße, die oft von Anteilen des Plexus myentericus begleitet werden. Die Septen der Musculi intermedii sind wesentlich feiner als die der Musculi laterales. Im Schnitt erscheinen sie häufig auseinandergedrängt oder zerrissen. Die einzelnen Muskelbündel stehen über Anastomosen miteinander in Verbindung.

Die Lamina Subserosa ist deutlich stärker als im Drüsenmagen und enthält zum Teil sehr große Gefäße sowie große, auffällige Ganglien und Nervenstränge.



Abb. 4: Drüsenmagen, H/E, oberflächliche (O) und tiefe (T) Propriadrüsen, x 32

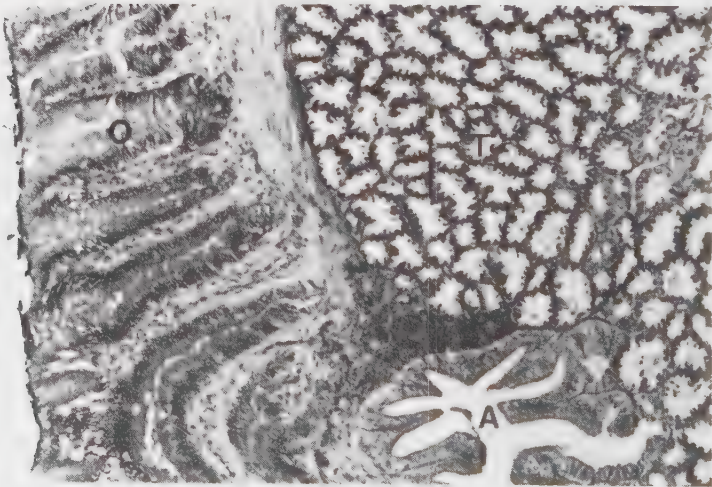


Abb. 5: Drüsenmagen, H/E, oberflächliche (O) und tiefe (T) Propriadrüsen mit Ausführungsgang (A), x 160

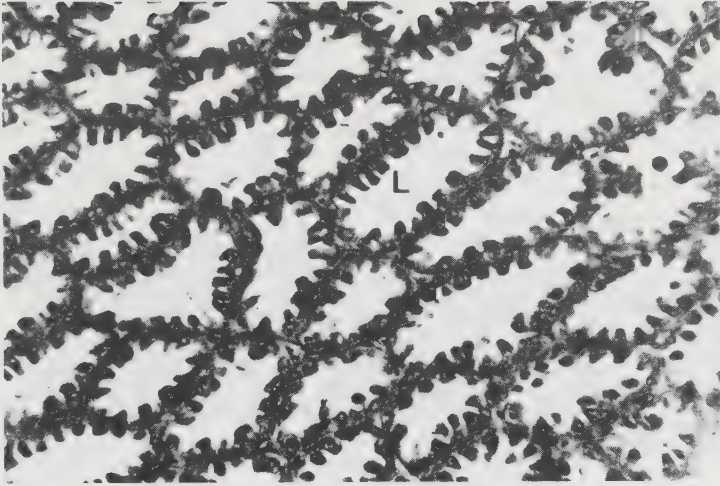


Abb. 6: Drüsenmagen, H/E, tiefe Propriadrüsen, Drüsenlumen (L), x 400

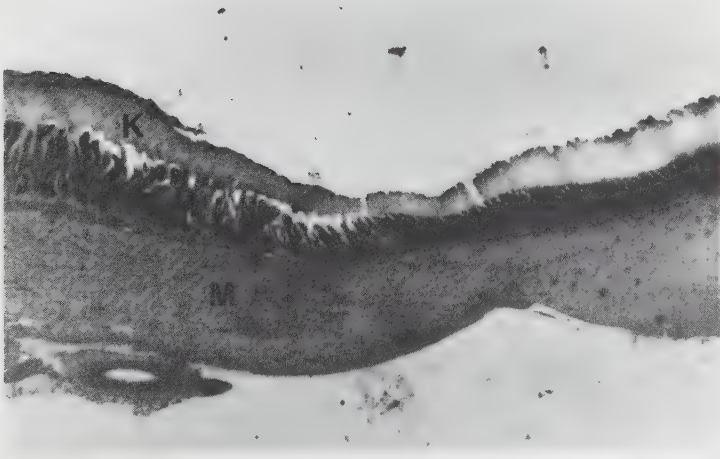


Abb. 7: Muskelmagen, H/E, Keratinoid (K), Drüsenschicht (D), Muskulatur (M), x 32

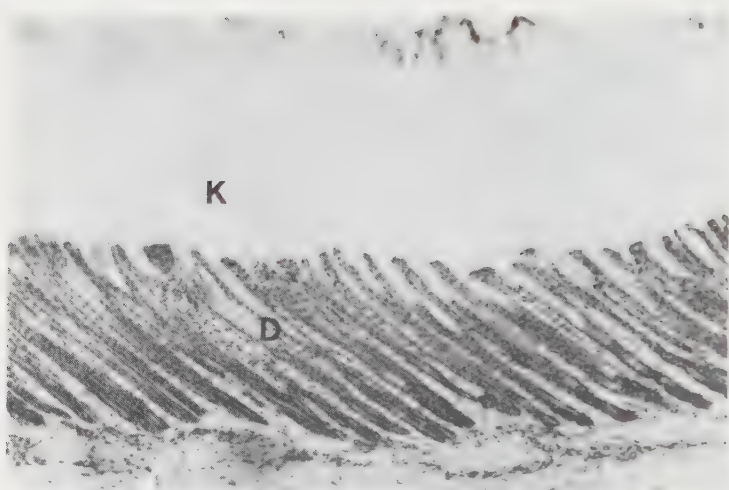


Abb. 8. Muskelmagen, H/E, Keratinoid (K), Drüsenschicht (D), x 160

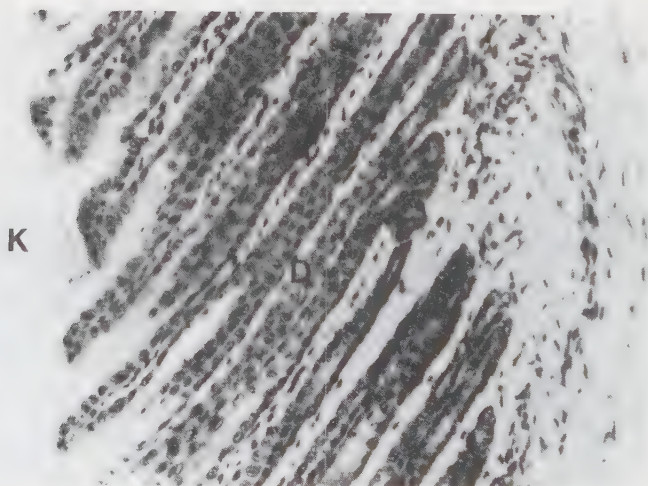


Abb. 9. Muskelmagen, H/E, Keratinoid (K), Drüsenschicht (D), x 400

4.1.2. Semidünnschnitttechnik

Das allgemeine histologische Bild des Drüsen- wie auch des Muskelmagens unterscheidet sich nicht von dem der 5- μ m- Schnitte. Verschiedene Details sind jedoch erst im Semidünnschnitt erkennbar.

4.1.2.1. Drüsenmagen

Die Epithelzellen der oberflächlichen Drüsen enthalten in ihrem apikalen Bereich zahlreiche helle Granula, die zur Zellmembran hin größer werden. Die seitlichen Zellmembranen liegen in ihrer ganzen Länge eng aneinander. Die basalen Zellmembranen sind unregelmäßig gefaltet. Im basalen Zytoplasma sind Vesikel erkennbar.

Im Epithel der tiefen Propriadrüsen (Abb. 10, 11) sind mit Methylenblau ungefärbte Vesikel und intensiv dunkelblau gefärbte Granula zu beobachten. Ein bestimmtes Verteilungsmuster der Granula innerhalb des Zytoplasmas konnte nicht festgestellt werden. Die seitlichen Zellmembranen sind in ihrer oberen Hälfte mehr oder weniger auseinandergedrängt. Der Zellkern ist bei einigen Zellen von basal nach zentral, im Extremfall sogar etwas nach apikal, verlagert. Im Bereich basal des Kerns wirkt das Zytoplasma unregelmäßig gestreift. Das Bindegewebe zwischen den einzelnen Drüsentubuli enthält eine große Anzahl von Kapillaren.

Die Epithelzellen der Sammelräume (Abb. 12) besitzen basal ein helles, schaumig wirkendes Zytoplasma. Apikal ist es dunkler, homogener und manchmal mit kleinen, dunklen Granula angefüllt. Die Zellkerne sind oval und lassen deutliche, membranständige Nucleoli erkennen. Zwischen den Epithelzellen liegen kleinere, isoprismatische Zellen mit hellen basalen Granula und einem großen, hellen Kern. Diese Zellen sind im Paraffinschnitt nicht zu finden.

4.1.2.2. Muskelmagen (Abb. 13)

Das Keratinoid färbt sich in den Drüsenschläuchen blau und bildet außerhalb deutlich sichtbare Säulen. Die Matrix ist ungleichmäßig blaß bis kräftig blau gefärbt.

Das Oberflächenepithel ist hochprismatisch, hell und granuliert. Unter der apikalen Zellmembran sind dunkle Ablagerungen zu beobachten. Das Oberflächenepithel geht allmählich aus dem Drüsenepithel hervor. An der Mündung sind keine Krypten sichtbar.

Die Zellen des Drüsenepithels sind bei vollständig mit Sekret gefüllten Drüsen in Mündungsnähe stark abgeflacht. Am Drüsengrund sind sie iso- bis hochprismatisch. Ihr Zytoplasma färbt sich homogen graublau. Dazwischen finden sich vereinzelt Zellen mit hellem, granuliertem Zytoplasma und einem hellen Kern mit mehreren Nucleoli. Sie können in der gesamten Länge der Drüsenschläuche, häufiger jedoch am Drüsengrund, gefunden werden und treten in einer Anzahl von keiner bis drei pro Tubulus auf. In Mündungsnähe sind sie weniger abgeflacht als die Epithelzellen.

Das Bindegewebe zwischen den Drüsen ist bis zur Spitze von Kapillaren durchzogen. Unterhalb der Drüsen enthält das Bindegewebe neben den Gefäßen noch Nervenplexus, die sich in den Septen der Muskulatur fortsetzen. Die Septen sind zum Teil sehr fein und wellenförmig. Das histologische Bild der Muskulatur weicht nicht von dem bei den Standardfärbungen ab.

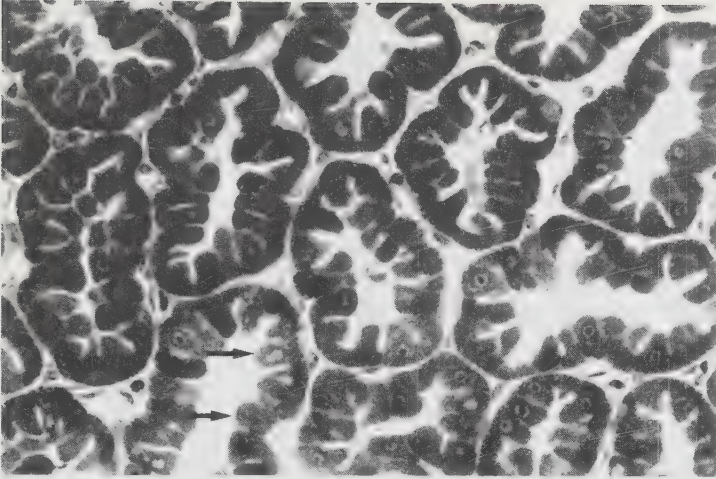


Abb. 10: Drüsenmagen, Semidünnschnitt, tiefe Drüsen, Zellapices ins Lumen vorgewölbt (->), x 640

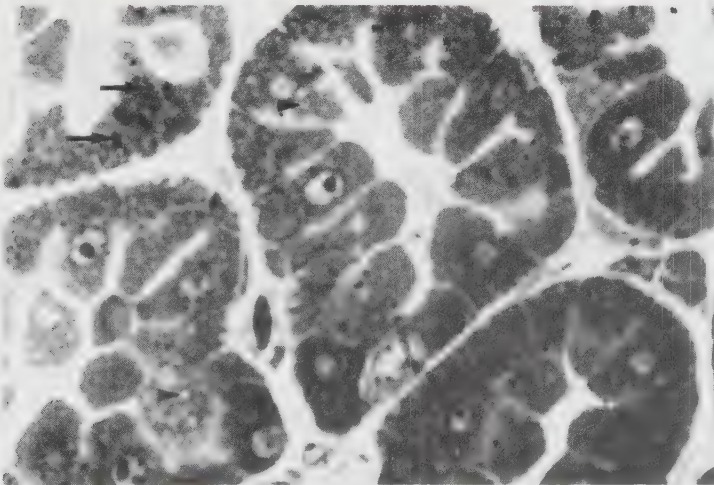


Abb. 11: Drüsenmagen, Semidünnschnitt, dunkle Granula (->) und helle Vesikel (>) in den Drüsenzellen der tiefen Drüsen, x 1600

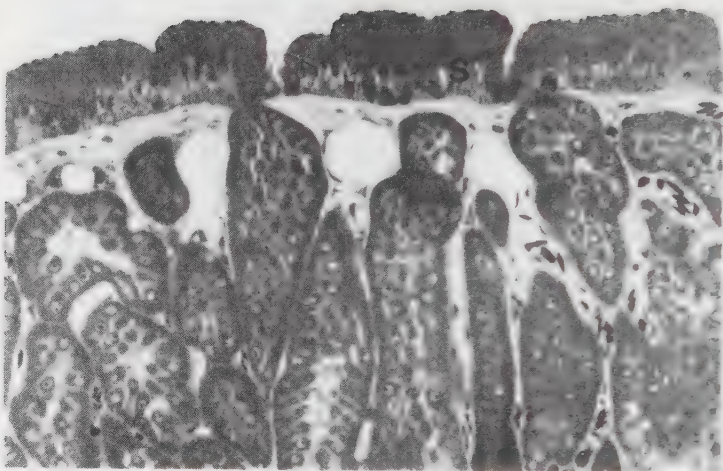


Abb. 12: Drüsenmagen, Semidünnschnitt, Sammelraumepithel (S), x 400

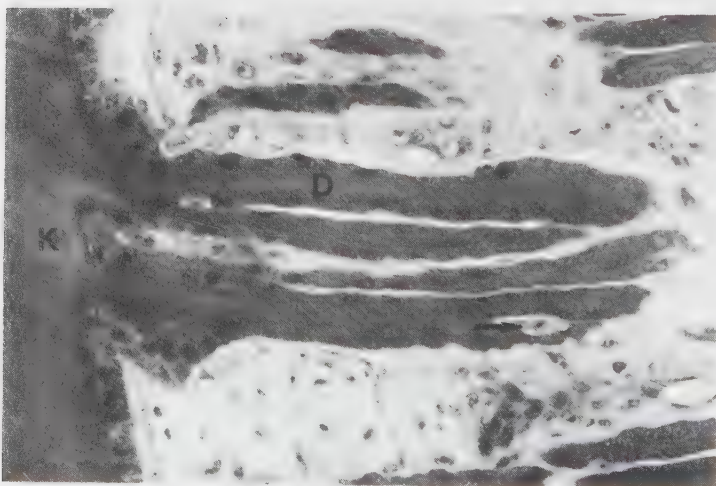


Abb. 13: Muskelmagen, Semidünnschnitt, Keratinoid (K), Drüsenschläuche (D), blasse Zellen im Drüsenepithel (-->), x 640

4.2. Elektronenmikroskopische Untersuchungen

4.2.1. Drüsenmagen

Das Epithel der Schleimhautoberfläche und der oberflächlichen Propriadrüsen wurde nicht elektronenmikroskopisch untersucht.

Die schwach hochprismatischen Epithelzellen der tiefen Propriadrüsen (Abb. 14, 15, 17) sind in ihrem unteren Drittel durch junctional complexes verbunden. Ihr glattes apikales Plasmalemm ist in unterschiedlichem Maße in das Drüsenlumen vorgewölbt. Die seitlichen Zellmembranen benachbarter Zellen sind durch fingerförmige Verzahnungen, vor allem basal der junctional complexes, verbunden. Die basale Zellmembran zeigt zahlreiche Einfaltungen. Der Zellkern ist rund bis oval und weist an der Kernmembran verdichtetes Chromatin sowie einen deutlich ausgeprägten Nucleolus auf. Das Zytoplasma enthält zahlreiche große, ovale Mitochondrien, im basalen Bereich ein stark entwickeltes rauhes Endoplasmatisches Reticulum sowie apikal in großer Menge vorkommende kleine Vesikel. Außerdem sind in wechselnder Anzahl auftretende, elektronendichte Granula zu beobachten.

An der Basis des tiefen Drüsenepithels können enteroendokrine Zellen gefunden werden (Abb. 15, 16, 17). Diese zeichnen sich durch ihre entlang der Basalmembran gestreckte Form und durch ihre Lage in unmittelbarer Nähe der Gefäße im Bindegewebe aus. Ihre Zellmembran geht fingerförmige Verbindungen mit den benachbarten Drüsenzellen ein. Der Zellkern ist groß und oval und enthält einen ausgeprägten Nucleolus. Das Zytoplasma ist durch die Anwesenheit zahlreicher, elektronendichter Granula gekennzeichnet. Dabei können anhand der Anzahl, Form, Größe und Elektronendichte der Granula verschiedene Typen von enteroendokrinen Zellen unterschieden werden. Die Mitochondrien und das Endoplasmatische Reticulum dieser Zellen sind schwach ausgeprägt.

Ebenfalls zwischen den Zellen des Drüsenepithels liegen isoprismatische

Zellen mit ovalem Kern und wenig Zytoplasma (Abb. 18). Dieses Zytoplasma enthält einige kleine Mitochondrien sowie zahlreiche Vesikel. Zellkern und Zytoplasma sind im elektronenmikroskopischen Bild auffallend hell.

Das Epithel der Sammelräume besteht aus hochprismatischen, seitlich eng aneinanderliegenden Zellen. Ihr apikales Plasmalemm ist mit kurzen Mikrovilli besetzt. Die lateralen Zellmembranen greifen fingerförmig ineinander. Die Oberfläche der basalen Zellmembran ist durch Invaginationen vergrößert. Diese Zellen besitzen einen unregelmäßig begrenzten, oval geformten Kern. Im Zytoplasma enthalten sie kleine, elektronendichte Granula, die unter der apikalen Zellmembran stark gehäuft auftreten. Das basale Zytoplasma ist durch zahlreiche Spalten gekennzeichnet.

Zwischen den Epithelzellen der Sammelräume liegen vereinzelt Zellen des tiefen Drüsenepithels, deren Zytoplasma ebenfalls im basalen Bereich Spalten aufweist.

4.2.2. Muskelmagen

Die Zellen des Drüsenepithels im Muskelmagen besitzen eine je nach Drüsentiefe abgeflachte bis niedrig prismatische Form (Abb. 19, 20). Ihre apikale Zellmembran ist mit kurzen Mikrovilli besetzt. Die lateralen Zellmembranen benachbarter Zellen liegen eng aneinander und sind apikal durch junctional complexes verbunden. Das basale Plasmalemm liegt glatt auf der Basalmembran. Der Zellkern ist rund bis oval und unregelmäßig begrenzt. Im Zytoplasma finden sich kleine, unauffällige Mitochondrien, ein gut ausgeprägtes rauhes Endoplasmatisches Reticulum sowie mäßig elektronendichte Sekretgranula.

Zwischen den Drüsenzellen sind im Drüsenepithel tropfenförmige Zellen mit rundem Kern und hellem Zytoplasma zu erkennen (Abb. 22). Diese sind apikal zu einem länglichen Fortsatz ausgezogen. Ihr Zytoplasma enthält

wenige Mitochondrien, zahlreiche, runde Vesikel des rauen Endoplasmatischen Reticulums sowie eine Anzahl elektronendichter Granula apikal des Kerns.

Als dritter Zelltyp treten wenige, abgeflachte Zellen mit rundem bis ovalem, basal gelegenen Kern, im Drüsenepithel auf (Abb. 21). Ihr Zytoplasma ist hell und mit rauhem Endoplasmatischem Reticulum ohne ausgeprägte Vesikel angefüllt. Die Mitochondrien sind unauffällig. Vereinzelt sind mäßig elektronendichte Granula zu beobachten.

Abkürzungen in den elektronenmikroskopischen Bildern:

- CA: Kapillare
- CT: Bindegewebe
- EC: Erythrozyt
- gr: Granulum
- jc: junctional complex
- li: Lipidtropfen
- mi: Mitochondrium
- mv: Mikrovilli
- nu: Nukleus
- nuc: Nucleolus
- rer: rauhes Endoplasmatisches Reticulum
- se: Sekret
- ve: Vesikel

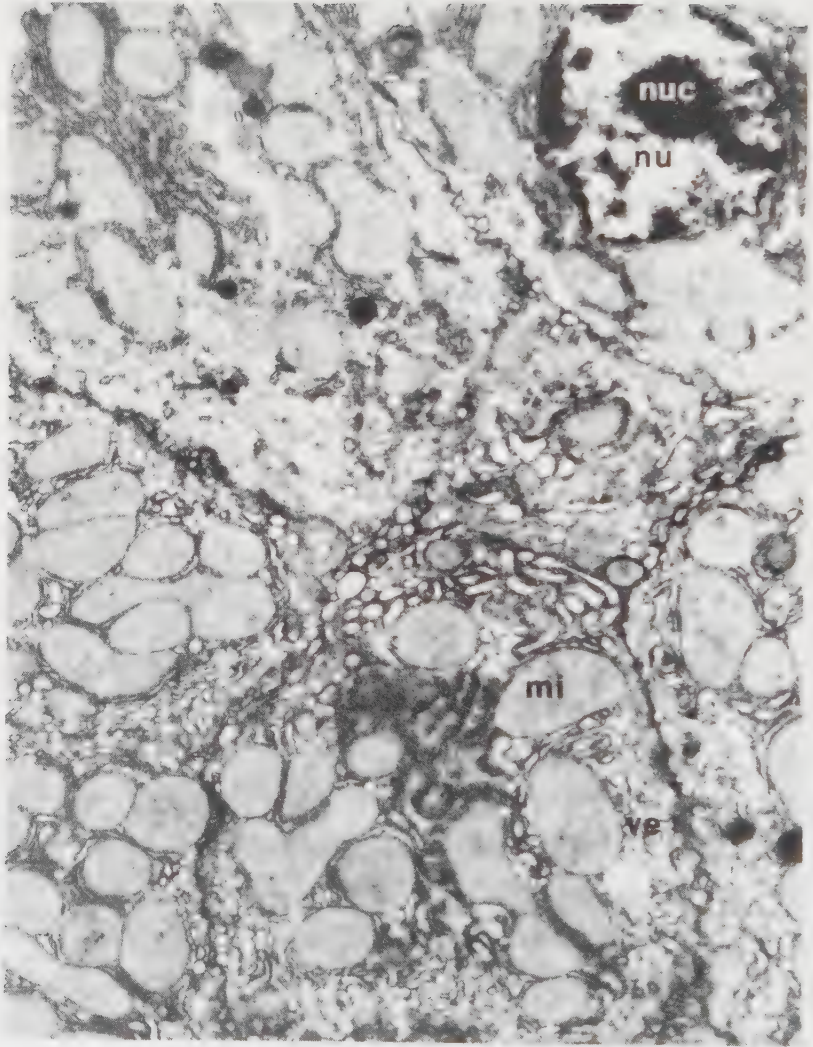


Abb. 14: Drüsenmagen, Drüsenzellen der tiefen Propriadrüsen mit zahlreichen Mitochondrien und Vesikeln. x 12000

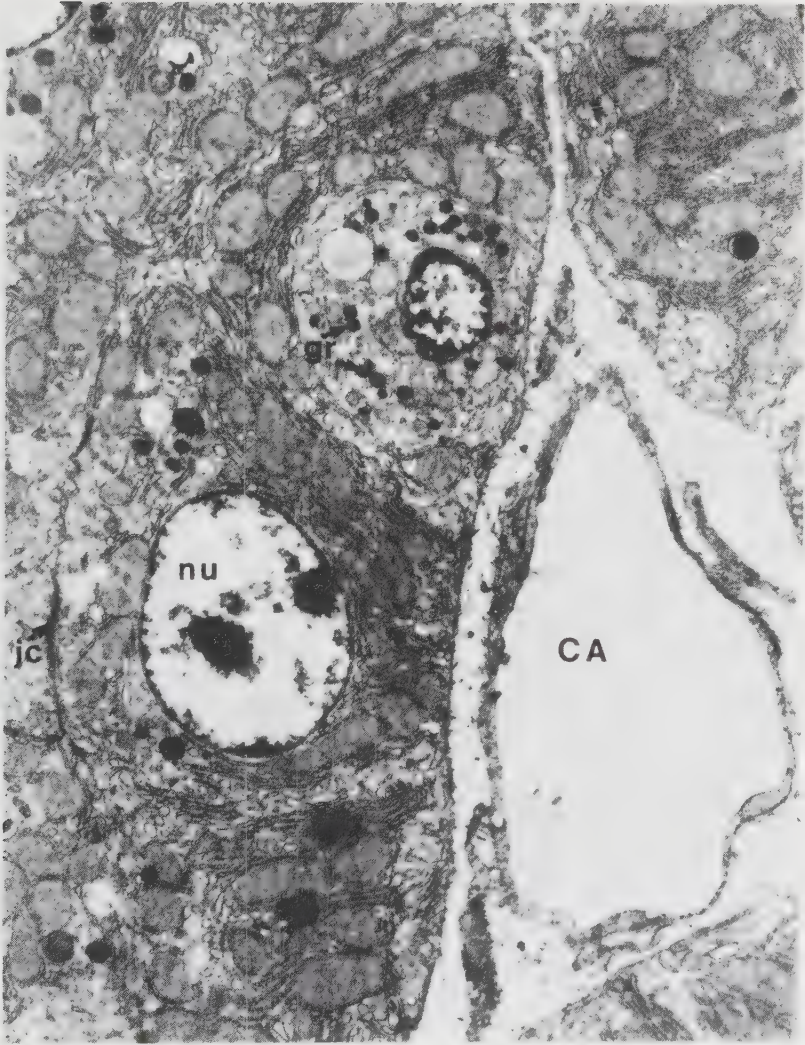


Abb. 15: Drüsenmagen, Drüsenzellen und Hormonzelle in direkter Nachbarschaft zu einer Kapillare. x 9000

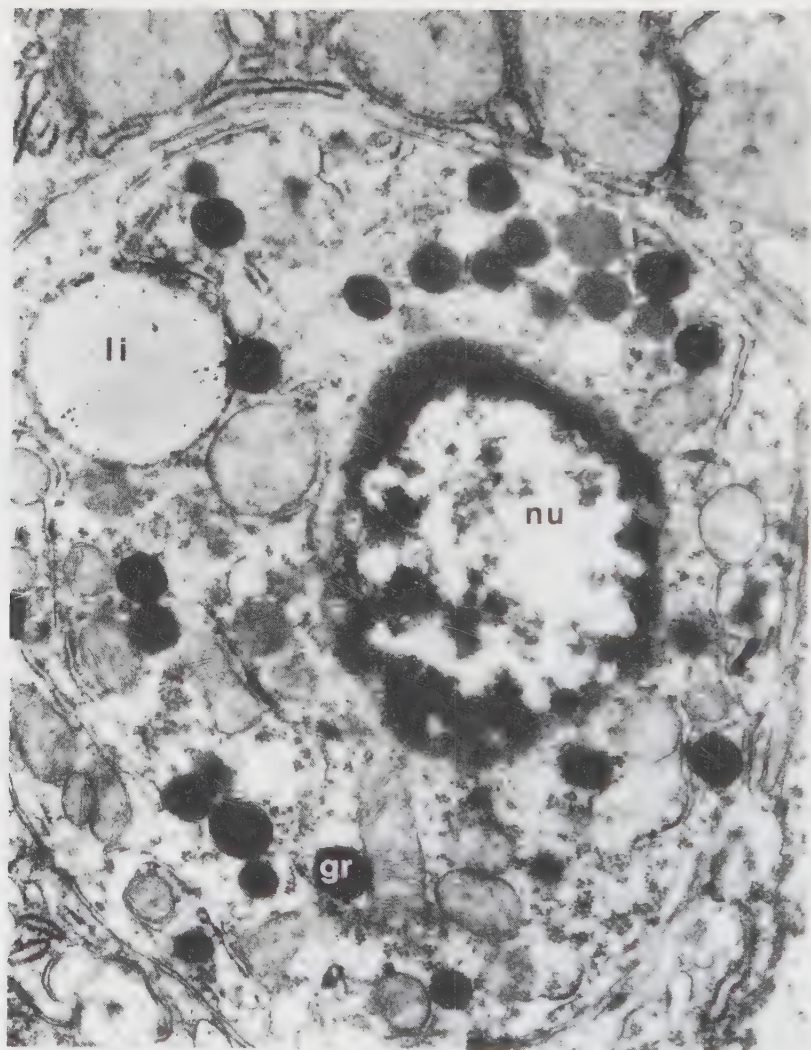


Abb. 16: Drüsenmagen, Hormonzelle mit mäßig zahlreichen, unterschiedlich elektronendichten Granula. x 36000

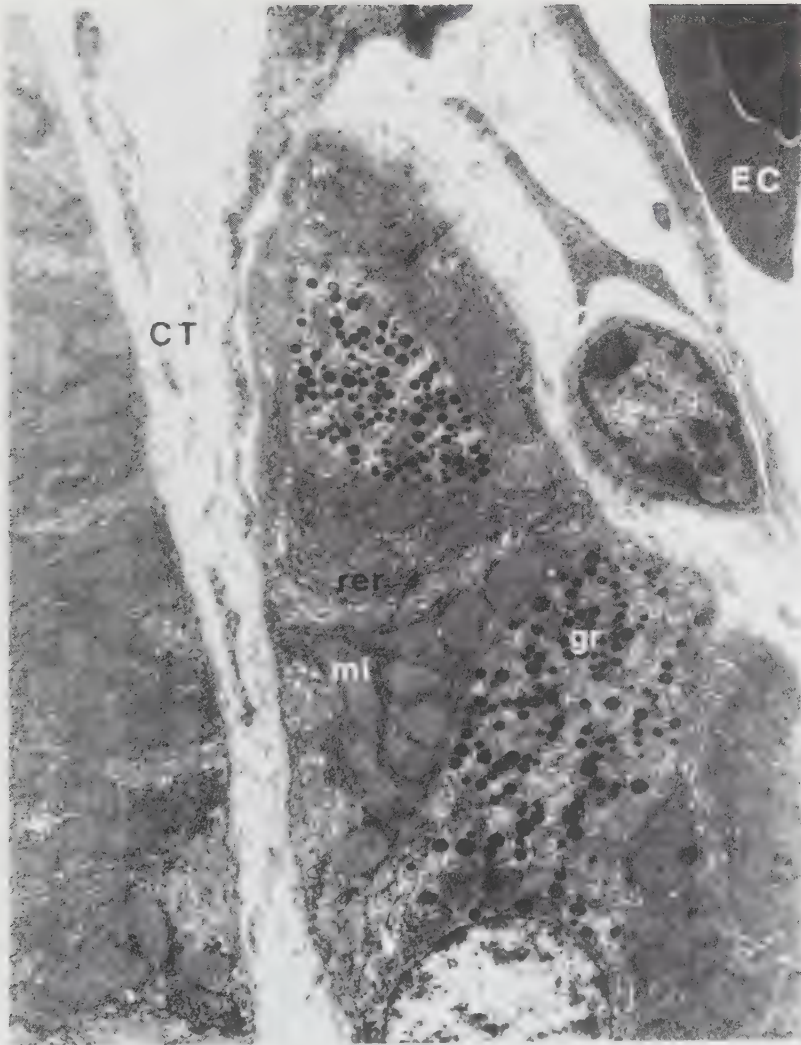


Abb. 17: Drüsenmagen, Drüsenzellen und Hormonzelle mit zahlreichen, elektronendichten Granula. x 9000

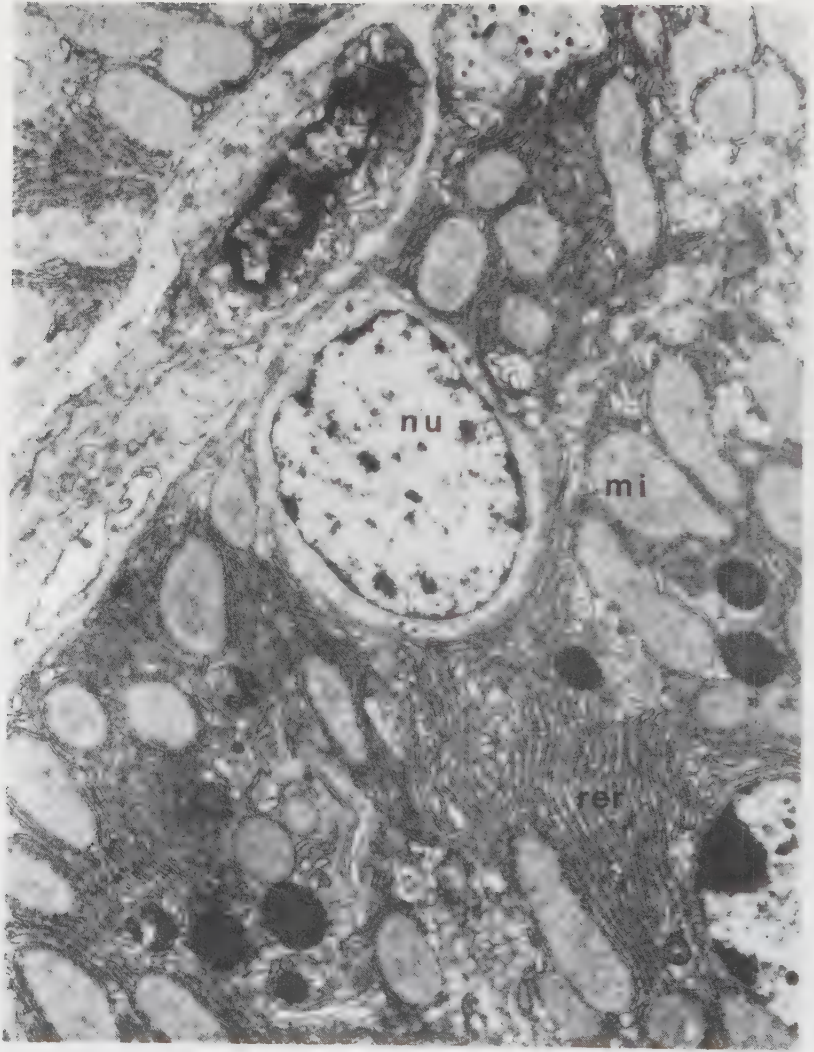


Abb. 18: Drüsenmagen, Drüsenzellen mit ausgeprägtem rauhem Endoplasmatischem Reticulum, Vorläuferzelle mit wenig hellem Zytoplasma, x 21000

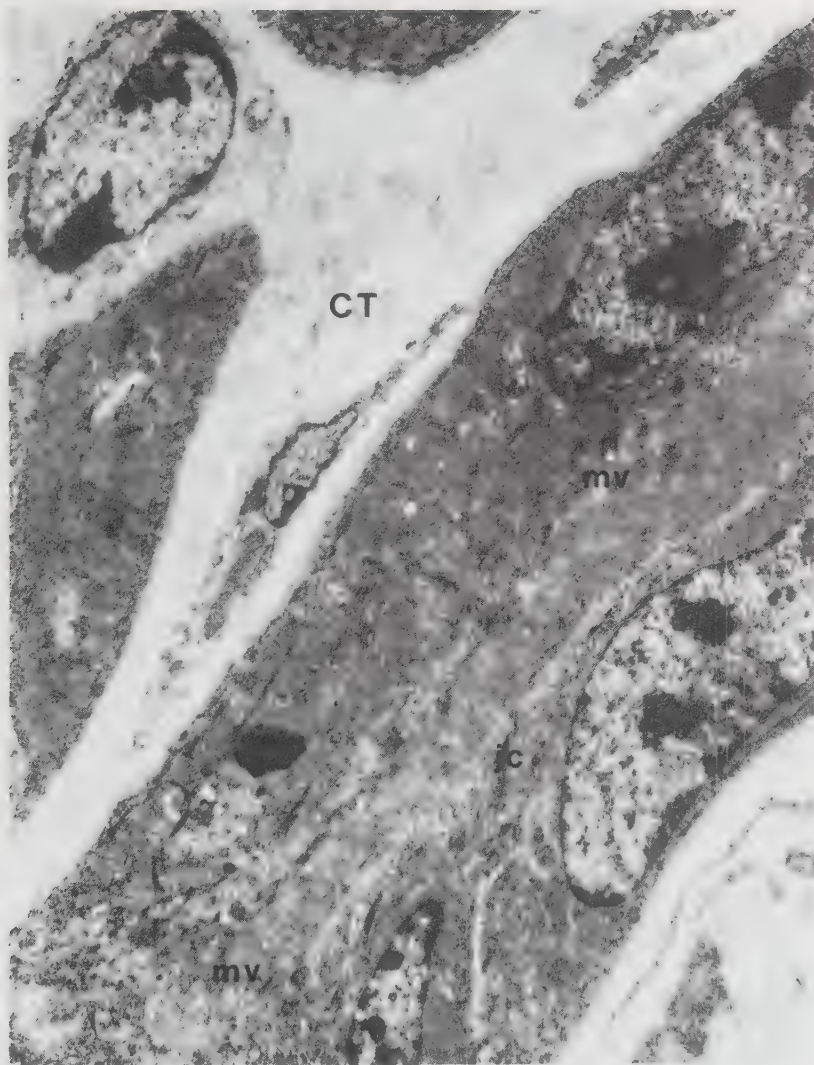


Abb. 19: Muskelmagen, abgeflachte Drüsenzellen mit sezerniertem Keratinoid, x 12000

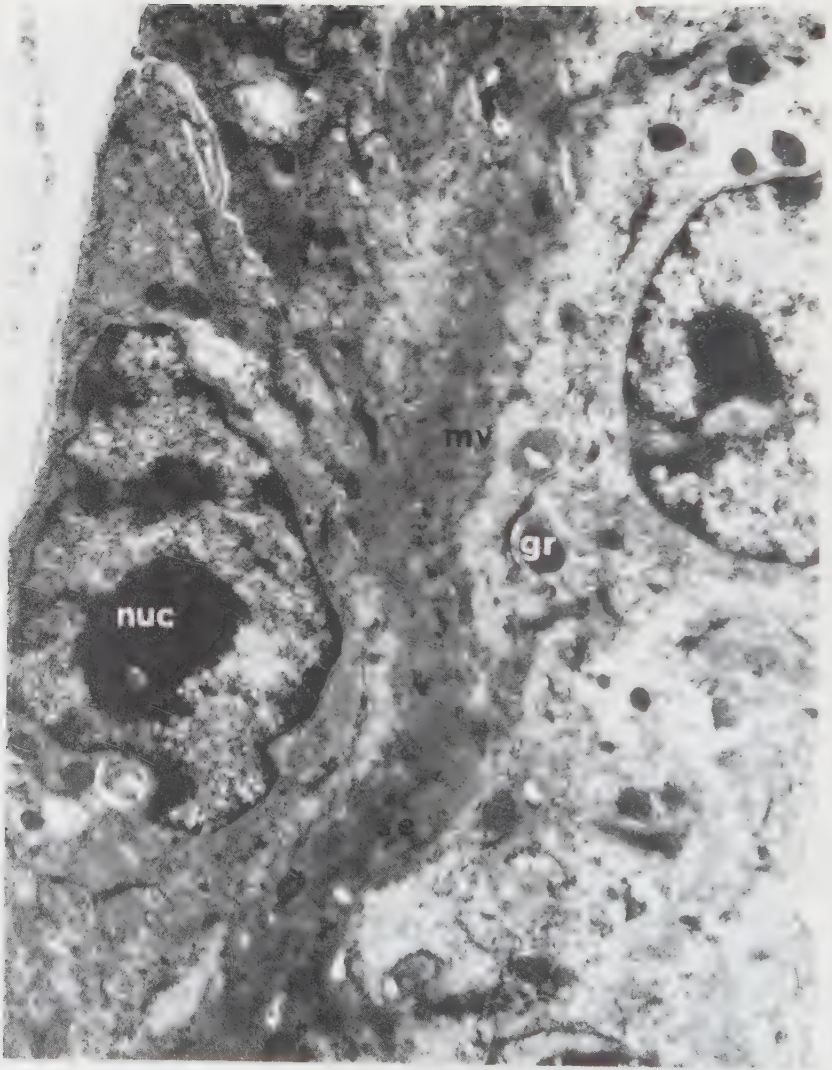


Abb. 20: Muskelmagen, Drüsenzellen am Drüsengrund mit Sekretgranula und sezerniertem Keratinoid. x 21000

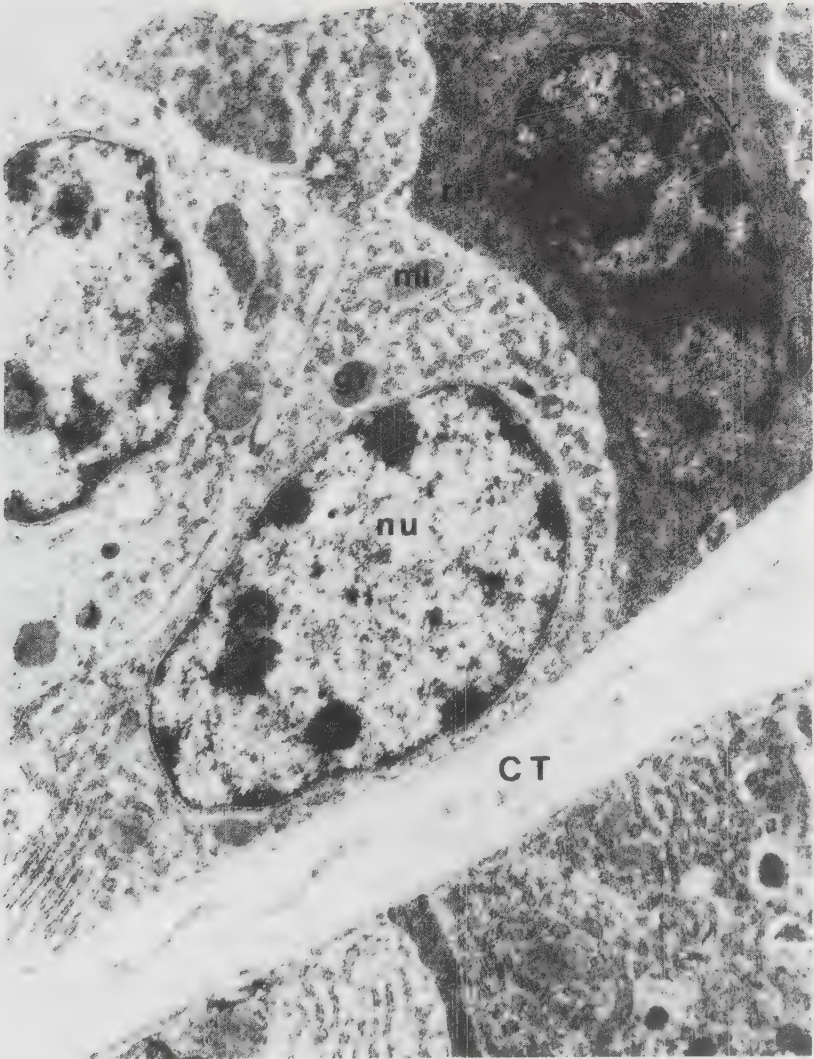


Abb. 21: Muskelmagen, Vorläuferzellen mit hellem Kern und lockerem Zytoplasma. x 21000

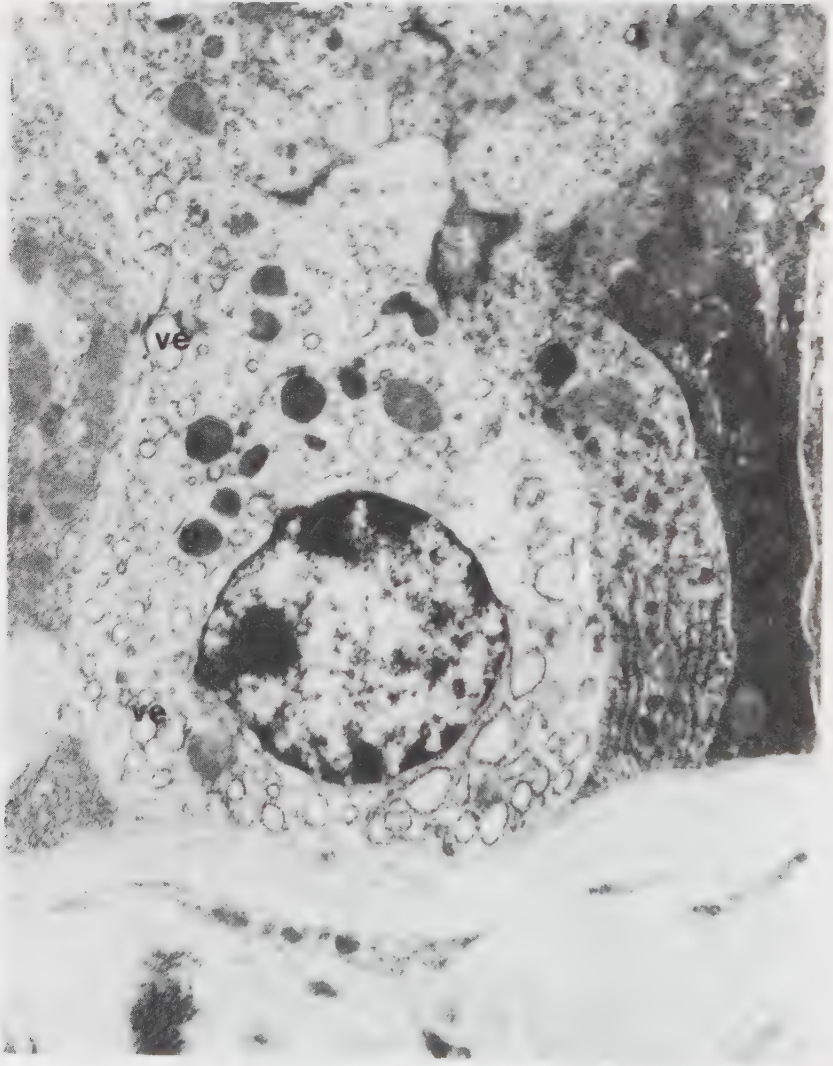


Abb. 22: Muskelmagen, Hormonzelle mit Zytoplasmaausläufern, Sekretgranula und Vesikeln des rauhen ER. x 21000

4.3. Histochemie

4.3.1. Lektinbindungsstellen

Spezifische Bindungsreaktionen zwischen Lektin und Gewebe werden bei Lektinkonzentrationen zwischen 0,02 und 0,1 mg/ml erreicht. Präinkubation mit dem korrespondierenden Zuckermolekül führt in allen Fällen zu negativen Ergebnissen beim anschließenden Lektinnachweis. Eine Ausnahme bilden hier die Erythrozyten sowie die Serosa, die auch in negativen Proben eine unspezifische Fluoreszenz aufweisen. Diese wurde bei der Ermittlung der Ergebnisse nicht berücksichtigt. Die endogene Gewebesperoxidase, welche unspezifisch mit Diaminobenzidin reagiert, wurde durch zwanzigminütige Inkubation mit 10 % Methanol inaktiviert.

4.3.1.1. Drüsenmagen

Einen Überblick über die FITC- markierten Lektine, die verwendete Verdünnung und die im Drüsenmagen gefundenen Lektinbindungsstellen gibt Tabelle 3. Tabelle 4 zeigt vergleichend das Lektinbindungsvermögen identischer Gewebsstrukturen für FITC- und HRP- markierte Lektine.

Die stärksten Reaktionen sowohl mit Fluoreszenz- als auch mit Peroxidasemarkierung sind bei WGA zu beobachten (Abb. 23, 24, 25, 26). WGA wird mit beiden Markern in annähernd gleicher Intensität an die selben Zellstrukturen gebunden. Oberflächliche und tiefe Drüsen binden dieses Lektin gleichermaßen bevorzugt an die apikale, die tiefen Drüsen daneben auch an die laterale Zellmembran. WGA- positiv sind auch die Gefäßendothelien sowie das Sekret der oberflächlichen Drüsen.

Im Gegensatz hierzu stehen die, wie WGA, N-Acetylglucosaminspezifischen Lektine UEA-2 und GS-2. UEA-2 zeigt selbst bei höchster Konzentration ausschließlich negative Ergebnisse. GS-2 wird bei hoher

Konzentration schwach an die lateralen Zellmembranen und das basale Zytoplasma der oberflächlichen Drüsen gebunden. Außerdem reagiert es sehr stark mit der apikalen Membran einzelner Alveolen der tiefen Drüsen sowie auch mit deren Inhalt, wobei in Serienschnitten stets die selben Alveolen betroffen sind. Im Bindegewebe können stellenweise positive Fasern nachgewiesen werden.

Ähnlich stark wie WGA reagiert das einzige Lektin der Glucose- Mannose-Gruppe, Con A, in Konjugation mit FITC (Abb. 27, 28). Dabei fällt auf, daß die apikalen Zellmembranen des oberflächlichen Drüsenepithels negativ sind, während die basale und seitliche Zellmembran und das basale Zytoplasma positiv reagieren. HRP- markiert wird Con A von den oberflächlichen Drüsen nicht und von den tiefen Drüsen nur sehr schwach gebunden. Das Gefäßendothel zeigt bei beiden Lektinkonjugaten das selbe, schwach positive Ergebnis.

Die Lektine der N- Acetylgalactosamingruppe verhalten sich in ihrem Bindungsvermögen sehr unterschiedlich. SBA ist bei FITC- markierung nur in den tiefen Drüsen schwach positiv, bei HRP- markierung dagegen wird es an die apikalen und seitlichen Membranen der tiefen Drüsen und an die apikalen Membranen der oberflächlichen Drüsen gut gebunden (Abb. 29, 30). Auch die Apikalmembranen der Sammelräume weisen Lektinbindungsstellen für SBA auf. Sowohl die oberflächlichen als auch die tiefen Drüsen zeigen Bindungsvermögen für DBA-HRP, während DBA-FITC im gesamten untersuchten Gewebe negativ reagiert. Wird Peroxidase- gekoppeltes PNA verwendet, dann lassen sich keine PNA- bindungsstellen nachweisen, während mit FITC- markiertem PNA im apikalen Zytoplasma der oberflächlichen und in feinen Bindegewebsfasern der tiefen Drüsen eine positive Reaktion nachweisbar ist. Ein positives Ergebnis mit PNA- HRP kann allerdings erzielt werden, wenn statt des PBS- Puffers ein Tris- Puffer des selben pH- Wertes (6,8) verwendet wird. In diesem Fall sind die apikalen Zellmembranen der oberflächlichen und tiefen Drüsen sowie die

Gefäßendothelien positiv. GS-1 und HPA (Abb. 31) bilden stark positive Bereiche in einzelnen Alveolen der tiefen Drüsen. Zusätzlich reagiert HPA mit den seitlichen Zellmembranen der oberflächlichen Drüsen. MPA wird nur schwach an die apikalen Zellmembranen sowie an dünne Fasern im Bindegewebe der tiefen Drüsen gebunden. Die Gefäßendothelien reagieren positiv mit MPA-FITC und SBA-HRP.

Der Galactosegruppe gehören die beiden Lektine RCA-1 und RCA-2 an. Peroxidase- markiertes RCA-1 wird in großem Umfang an die apikalen Membranen der oberflächlichen und tiefen Drüsen, deren Sekret und an die Gefäßendothelien gebunden (Abb. 32). Mit RCA-1-FITC können lediglich an den apikalen Membranen der tiefen Drüsen Bindungsstellen nachgewiesen werden. RCA-2-FITC wird an die apikalen und seitlichen Membranen sowie an das basale Zytoplasma der oberflächlichen Drüsen und an die apikalen und seitlichen Membranen der tiefen Drüsen gebunden (Abb. 33, 34).

Für das zur Fucosegruppe gehörende UEA-1 existieren in den tiefen Drüsen Bindungsstellen an den apikalen (HRP), bzw. basalen Zellmembranen und an einzelnen Abschnitten des Bindegewebes (FITC). Mit Peroxidase wird UEA-1 auch schwach an die apikalen Zellmembranen der oberflächlichen Drüsen gebunden.

Für alle Lektine kommen Bindungsstellen an den lateralen Zellmembranen der tiefen Drüsen nur apikal der Schlußleisten, an der ins Lumen ragenden Zellspitze, vor.

Tabelle 3: Lektinbindungsstellen im Drüsenmagen mit Lektin- FITC

Lektin	Verdünnung	oberfl. Drüsen	tiefe Drüsen	Drüseninhalt	Gefäßendothel
Con A	1:50	l: +; b: ++; z: ++	a: ++; l: ++	-	+
DBA	1:10	-	-	-	-
GS-1	1:10	z: ++ (v)	einz. Alveolen: a: +++	++	-
GS-2	1:10	l: +; z: +	einz. Alveolen: a: +++	++	-
HPA	1:50	l: +	einz. Alveolen: a: +++	++	-
MPA	1:25	-	a: +	-	+
PNA	1:50	z: + (u)	-	-	-
RCA-1	1:10	-	a: +	-	-
RCA-2	1:50	a: +; l: +; z: ++	a: ++; l: ++	-	-
SBA	1:10	-	a: +	-	-
UEA-1	1:50	-	b: +; z: + (basal)	-	-
UEA-2	1:10	-	-	-	-
WGA	1:50	a: +++ ; z: ++	a: +++; l: +++; b: +; z: +	oberfl. Dr.: ++	++

a: apikale Zellmembran, l: laterale Zellmembran, b: basale Zellmembran, z: Zytoplasma

(v): vereinzelt, (u): ungleichmäßig, (o): oberflächlich

- : negativ, + : schwach positiv, ++ : mäßig positiv, +++ : stark positiv

Tabelle 4: Vergleich Lektin- FITC/Lektin- HRP im Drüsenmagen

Lektin	Marker	Verdünnung	oberfl. Drüsen	tiefe Drüsen	Drüseninhalt	Gefäßendothel
Con A	FITC	1:50	l: +; b: ++; z: ++;	a: ++; l: ++	-	+
Con A	HRP	1:10	-	a: +; l: +	-	+
DBA	FITC	1:10	-	-	-	-
DBA	HRP	1:25	b: +; z: ++	a: +; b: ++; z: ++	-	-
PNA	FITC	1:50	z: + (u)	-	-	-
PNA	HRP	1:10	-	-	-	-
RCA-1	FITC	1:10	-	a: +	-	-
RCA-1	HRP	1:50	a: ++; z: +	a: +++; l: ++; b: +; z: +	++	++
SBA	FITC	1:10	-	a: +	-	-
SBA	HRP	1:25	a: ++	a: +++; l: ++; z: +	++	+
UEA-I	FITC	1:50	-	b: +	-	-
UEA-I	HRP	1:10	a: +	a: +	-	-
WGA	FITC	1:50	a: +++; z: ++	a: +++; l: ++; b: +; z: +	oberfl. Dr.: ++	++
WGA	HRP	1:50	a: ++	a: +++; l: +++	++	+

a: apikale Zellmembran, l: laterale Zellmembran, b: basale Zellmembran, z: Zytoplasma

(v): vereinzelt, (u): unregelmäßig, (o): oberflächlich

- : negativ, + : schwach positiv, ++ : mäßig positiv, +++ : stark positiv

4.3.1.2. Muskelmagen

Im Muskelmagen werden Lektine an die Magendrüsen und deren Sekretionsprodukt, das Keratinoid, die Gefäßendothelien sowie an einzelne Abschnitte des Bindegewebes gebunden. Die Muskulatur ist negativ. Tabelle 5 stellt die Bindungsstellen FITC- markierter Lektine im Muskelmagen dar, Tabelle 6 vergleicht diese mit den Bindungsstellen HRP- markierter Lektine

Wie schon im Drüsenmagen, so wird WGA auch im Muskelmagen nach beiden Methoden gut gebunden. Eine deutliche Reaktion ist vor allem an den Zellen im Bereich der Drüsenmündungen und an der Oberfläche des Keratinoids festzustellen. Eine Bindung mit den apikalen Zellmembranen am Drüsengrund ist ebenfalls bei beiden Markierungsarten zu beobachten. UEA-2 und GS-2 reagieren im gesamten untersuchten Gewebe negativ

Con A- FITC (Abb. 35) wird schwach am Keratinoid und den Drüsenmündungen sowie mäßig bis stark am Drüsengrund und an den Gefäßendothelien gebunden. Auch die Bindegewebssepten der Muskulatur weisen teilweise Con A- Bindungsstellen auf. Mit Peroxidase- markiertem Con A hingegen lassen sich keine Lektinbindungsstellen nachweisen.

Die Lektine der N-Acetyl-Galaktosamingruppe zeigen auch im Muskelmagen ein sehr unterschiedliches Bindungsvermögen. So ist DBA bei FITC- markierung negativ bis auf einige Abschnitte mit positiven apikalen Membranen am Drüsengrund, während es mit HRP an basale Zellanteile an Drüsengrund und -mündung, an die Keratinoidoberfläche und an Gefäßendothelien gebunden wird. PNA reagiert als FITC- konjugat mäßig mit den apikalen und lateralen Zellmembranen der Drüsenmündungen (Abb. 36), ist aber bei Peroxidase- markierung in jedem Fall negativ. MPA- Bindungsstellen werden an der Oberfläche des Keratinoids und sehr stark an den apikalen Membranen im Drüsenmündungsbereich beobachtet. GS-1 wird an keine Zellstruktur des Muskelmagens gebunden. HPA reagiert mit dem Zytoplasma im ganzen Verlauf der Drüsen. SBA-HRP bindet sich an das

Epithel der Drüsen sowie an ihr Sekret. Mit SBA-FITC dagegen lassen sich nur an den apikalen Membranen der Drüsenmündung Bindungsstellen nachweisen. Die Gefäßendothelien reagieren mit HPA-FITC und SBA-Peroxidase positiv.

Von den beiden Galaktose- spezifischen Lektinen RCA-1 und RCA-2 ist RCA-1 in Verbindung mit FITC vollständig negativ. RCA-1-HRP und RCA-2-FITC reagieren dagegen annähernd gleich intensiv mit den apikalen Zellmembranen der Drüsen, dem Keratinoid und mit den Gefäßendothelien. Zusätzlich wird RCA-2 an die seitlichen Zellmembranen des Drüsenepithels gebunden.

UEA-1 wird sowohl bei der Fluoreszenz- als auch bei der Peroxidasemethode an die Oberfläche des Keratinoids gebunden. Bei Markierung mit HRP reagiert UEA-1 außerdem mit den apikalen Zellmembranen im Bereich der Drüsenmündungen, bei FITC- Markierung mit dem Zytoplasma apikal des Kerns im selben Bereich.

Tabelle 5: Lektinbindungsstellen im Muskelmagen mit Lektin-FITC

Lektin	Verdünnung	Keratinoid	Drüsenmündung	Drüsengrund	Gefäßendothel
Con A	1:50	+	a: +	a: ++	++
DBA	1:10	-	-	a: ++ (u)	-
GS-1	1:10	-	-	-	-
GS-2	1:10	-	-	-	-
HPA	1:10	-	z: +	z: +	-
MPA	1:25	++ (o)	a: +++	-	+
PNA	1:10	-	a: ++; l: +	-	-
RCA-1	1:10	-	-	-	-
RCA-2	1:50	++ (o)	a: ++; l: +	a: +	+
SBA	1:10	-	a: +	-	-
UEA-1	1:10	++ (o)	z: +	-	-
UEA-2	1:10	-	-	-	-
WGA	1:50	++ (o)	a: ++; l: +	a: +	++

a: apikale Zellmembran, l: laterale Zellmembran, b: basale Zellmembran, z: Zytoplasma

(v): vereinzelt, (u): unregelmäßig, (o): oberflächlich

- : negativ, + : schwach positiv, ++ : mäßig positiv, +++ : stark positiv

Tabelle 6: Vergleich Lektin- FITC/ Lektin- HRP Im Muskelmagen

Lektin	Marker	Verdünnung	Keratinoid	Drüsenmündung	Drüsengrund	Gefäßendothel
Con A	FITC	1:50	+	a: +	a: ++	++ (u)
Con A	HRP	1:10	-	-	-	-
DBA	FITC	1:10	-	-	a: ++ (u)	-
DBA	HRP	1:25	++ (o)	a: + (u); z: +	a: +; z: ++	+
PNA	FITC	1:10	-	a: ++; l: +	-	-
PNA	HRP	1:10	-	-	-	-
RCA-1	FITC	1:10	-	-	-	-
RCA-1	HRP	1:50	++ (o)	a: ++; z: +	a: +; (u)	++
SBA	FITC	1:10	-	a: +	-	-
SBA	HRP	1:25	+ (o)	a: ++	a: + (u); z: ++	++
UEA-1	FITC	1:10	+ (o)	z: +	-	-
UEA-1	HRP	1:10	+ (o)	a: + (u)	-	-
WGA	FITC	1:50	++ (o)	a: ++; l: +	a: +	++
WGA	HRP	1:50	++ (o)	a: ++	a: +	+

a: apikale Zellmembran, l: laterale Zellmembran, b: basale Zellmembran, z: Zytoplasma

(v): vereinzelt, (u): unregelmäßig, (o): oberflächlich

- : negativ, + : schwach positiv, ++ : mäßig positiv, +++ : stark positiv



Abb. 23. Drüsenmagen, oberflächliche Drüsen, WGA- FITC, apikale Zellmembranen und apikales Zytoplasma positiv (->), x 400

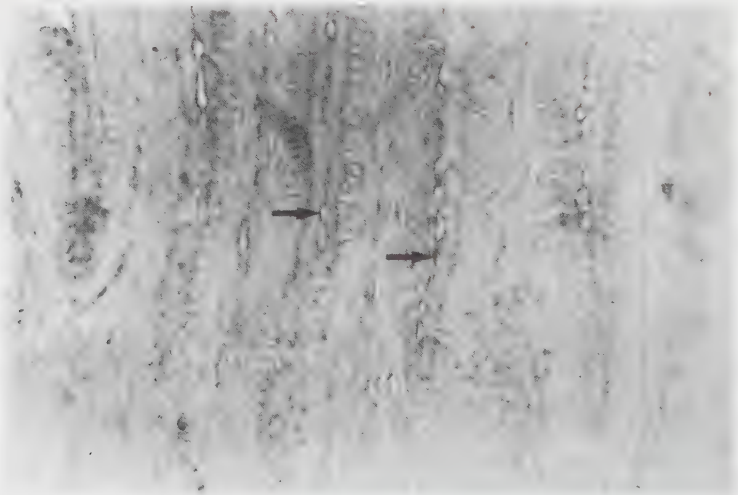


Abb. 24. Drüsenmagen, oberflächliche Drüsen, WGA- HRP, apikale Zellmembranen positiv (->), x 400



Abb. 25: Drüsenmagen, tiefe Drüsen, WGA- FITC, apikale und laterale Zellmembranen stark positiv, Gefäßendothel positiv (->), x 400



Abb. 26: Drüsenmagen, tiefe Drüsen, WGA- HRP, apikale und laterale Zellmembranen stark positiv (->), x 400

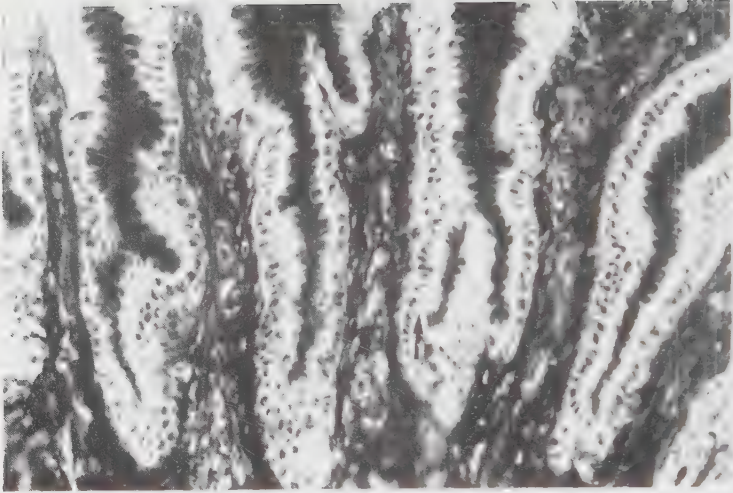


Abb. 27: Drüsenmagen, oberflächliche Drüsen, Con A- FITC, basales Zytoplasma stark positiv (->), x 400

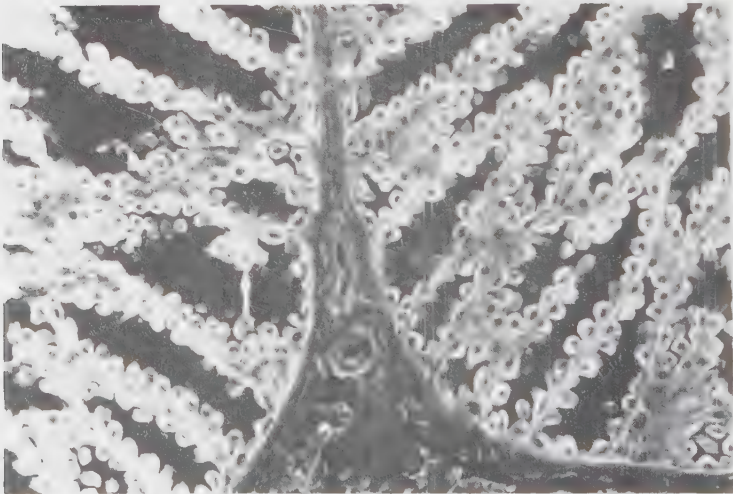


Abb. 28: Drüsenmagen, tiefe Drüsen, Con A- FITC, apikale und laterale Zellmembranen positiv (->), x 400

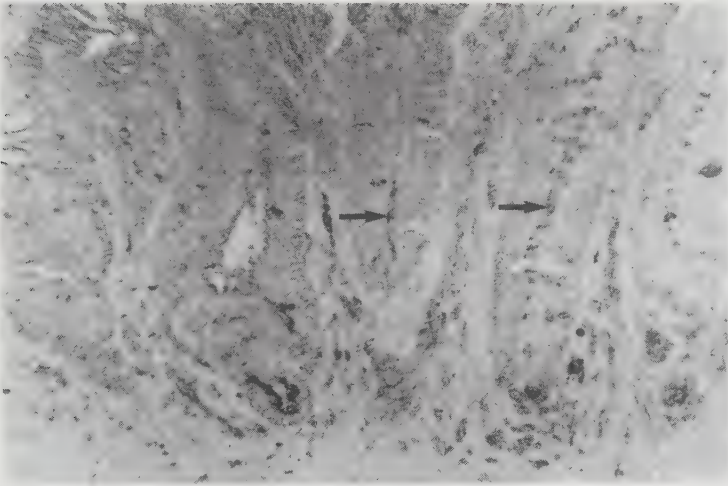


Abb. 29: Drüsenmagen, oberflächliche Drüsen, SBA- HRP, apikale Zellmembranen positiv (->), x 400

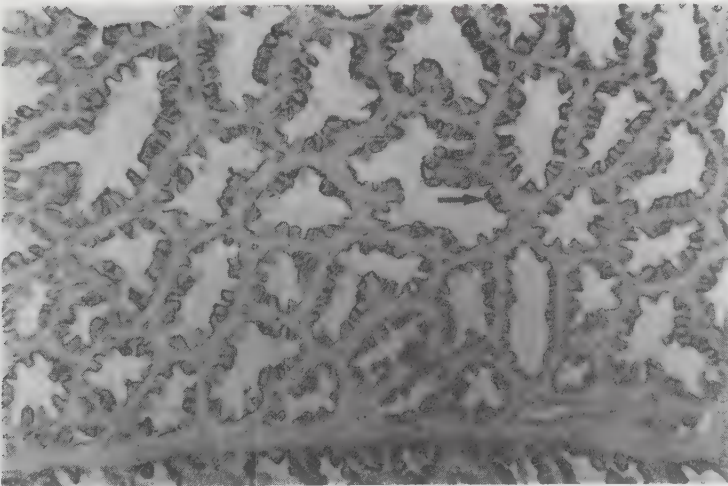


Abb. 30: Drüsenmagen, tiefe Drüsen, SBA- HRP, apikale und laterale Zellmembranen stark positiv (->), x 400



Abb. 31: Drüsenmagen, tiefe Drüsen, HPA- FITC, einzelne Alveolen einschließlich Sekret stark positiv (→), x 400

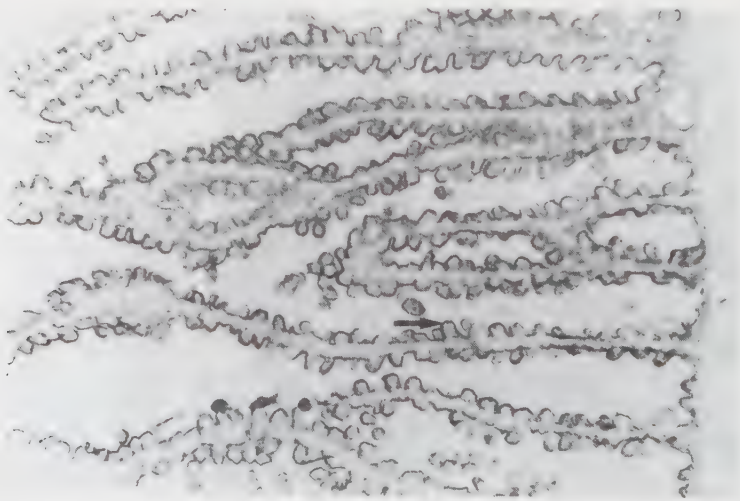


Abb. 32: Drüsenmagen, tiefe Drüsen, RCA-1- HRP, apikale und laterale Zellmembranen stark positiv (→), x 400

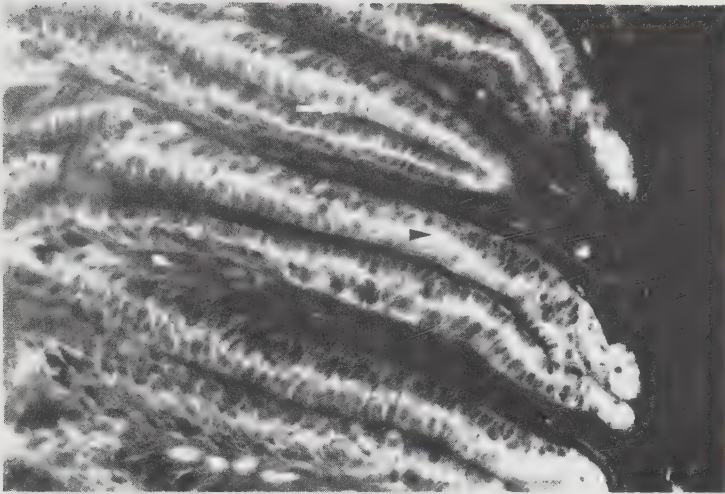


Abb. 33: Drüsenmagen, oberflächliche Drüsen, RCA-2- FITC, laterale Zellmembranen (→) und supranukleäres Zytoplasma (>) positiv, x 400

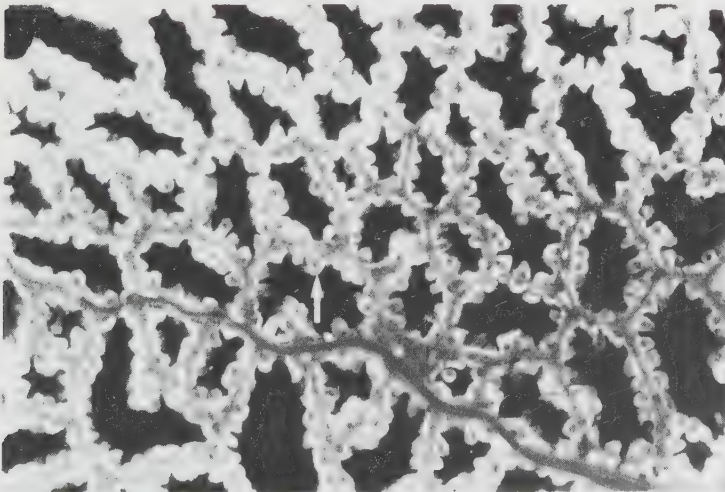


Abb. 34: Drüsenmagen, tiefe Drüsen, RCA-2- FITC, apikale und laterale Zellmembranen positiv (→), x 400

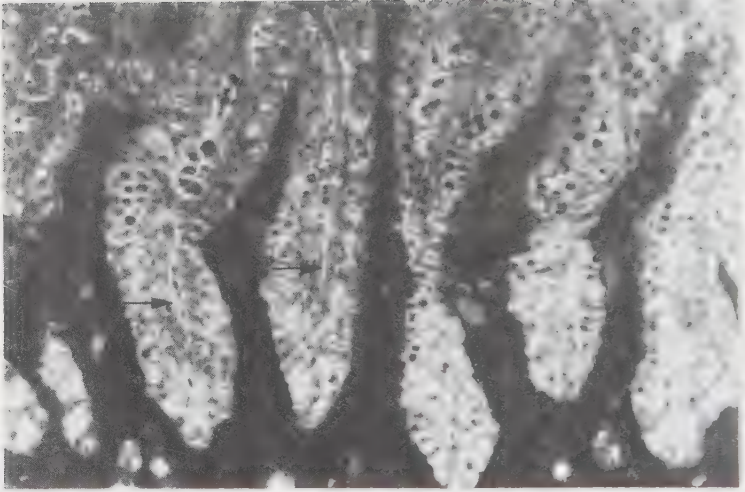


Abb. 35: Muskelmagen, Drüsenschicht, Con A- FITC, am Drüsengrund apikale Zellmembranen positiv (→), x 400



Abb. 36: Muskelmagen, Drüsenschicht, PNA- FITC, um die Drüsenmündung apikale und laterale Zellmembranen positiv (→), x 400

4.3.2. Immunocytochemischer Nachweis von gastrointestinalen Hormonen

4.3.2.1. Drüsenmagen

Von den vier untersuchten Hormonen Gastrin, Secretin, Substanz P und Somatostatin kann lediglich Somatostatin in Zellen des Drüsenmagens nachgewiesen werden. Gastrin, Secretin und Substanz P lassen sich im Drüsenmagen immunocytochemisch nicht nachweisen.

Die Somatostatin- positiven Zellen (Abb: 38, 39) treten im Epithel der tiefen Propriadrüsen in großer Anzahl auf. Sie sind etwas größer als die Drüsenzellen, liegen am Grund des Drüsenepithels und erstrecken sich dabei flach entlang der Basalmembran. Sie besitzen, wie bei günstiger Schnittebene deutlich sichtbar, einen oder mehrere Zytoplasmafortsätze mit bulbösen Auftreibungen an ihrem Ende. Eine direkte Verbindung mit dem Drüsenlumen ist nicht erkennbar. Die Verteilung der Somatostatin-positiven Zellen innerhalb der tiefen Drüsen ist gleichmäßig. Das Epithel der Sammelräume und Ausführungsgänge enthält keine mit Anti-Somatostatin reagierenden Zellen.

In den oberflächlichen Drüsen ist die Zahl der Somatostatin-immunoreaktiven Zellen in den tiefer gelegenen Anteilen deutlich höher als im Mündungsbereich der Drüsen. Auch hier sind sie zahlreich und etwas größer als die Epithelzellen und liegen unmittelbar der Basalmembran an. Ihre Zytoplasmaausläufer erscheinen kürzer und weniger ausgeprägt als in den tiefen Drüsen. Die Somatostatinzellen erreichen auch in den oberflächlichen Drüsen nicht das Lumen.

4.3.2.2. Muskelmagen

Im Muskelmagen kann auf immunocytochemischem Weg Secretin oder Substanz P nicht nachgewiesen werden. Somatostatin produzierende Zellen

finden sich im Bereich des caudalen Blindsacks, sowie am Magenausgang jeweils im oberen Drittel der Drüsenschlauche. In beiden Gebieten sind Somatostatinzellen nur vereinzelt anzutreffen. Sie sind faß- oder pyramidenförmig und erreichen zumindest teilweise das Drüsenlumen. Die positive Reaktion mit Anti-Somatostatin ist auf die basalen zwei Drittel der Zellen beschränkt. Das Drüsenepithel über den Musculi laterales enthält keine Somatostatin-immunoreaktiven Zellen.

Eine sehr schwache Färbung einzelner Zellen in den Drüsen des Muskelmagens ist beim immunocytochemischen Gastrinnachweis zu erkennen. Diese Zellen liegen basal im Epithel um die Drüsenmündungen und besitzen keine direkte Verbindung mit dem Lumen. Vereinzelt, am Magenausgang gelegene Gastrinzellen (Abb. 37) ähneln in ihrer Form den Somatostatinzellen im selben Gebiet, d.h. sie sind faßförmig, basal Gastrin-positiv und erreichen das Lumen. Ihre Anzahl nimmt zum Duodenum hin zu.

Weder im Drüsen- noch im Muskelmagen sind Nervenfasern oder -zellen zu finden, die bei den immunocytochemischen Reaktionen positiv reagieren.



Abb. 37. Muskelmagen, Drüsenschicht, Gastrin- PAP, Gastrin- positive Zelle im Bereich des Magenausgangs (->), x 400

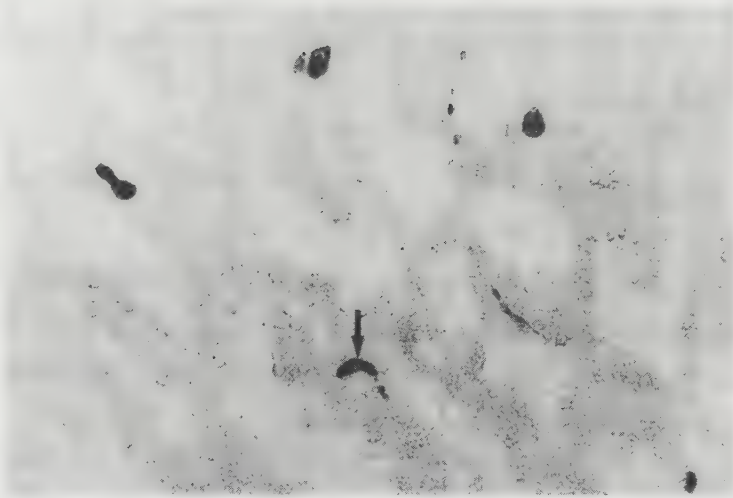


Abb. 38: Drüsenmagen, tiefe Drüsen, Somatostatin- PAP, Somatostatin-positive Zellen am Grund des Drüsenepithels (->), x 400

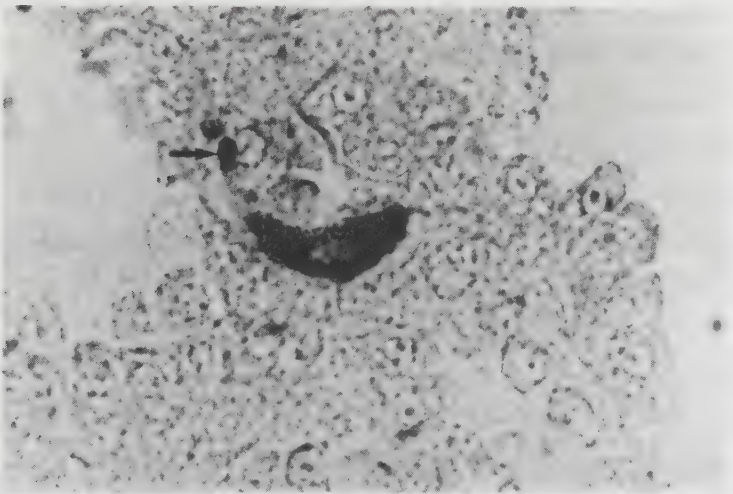


Abb. 39: Drüsenmagen, tiefe Drüsen, Somatostatin- PAP, Somatostatin-positive Zelle, Zytoplasmfortsatz (->), x 1600

4.3.3. Immunocytochemischer Nachweis von endogenen Opioiden

4.3.3.1. α -Neoendorphin

4.3.3.1.1. Drüsenmagen

Die Zellen der oberflächlichen Drüsen des Drüsenmagens enthalten immuno-reaktives α -Neoendorphin (ANE) im Bereich apikal des Kerns. Besonders stark reagiert eine schmale Zone direkt oberhalb des Kerns, sowie ein Streifen unterhalb der apikalen Zellmembran.

Die Epithelzellen der tiefen Magendrüsen zeigen im basalen Teil eine ausgeprägte, körnige Braunfärbung (Abb. 40). Die Intensität dieser Färbung variiert zwischen den Drüsenläppchen, kann jedoch überall im Gewebe beobachtet werden. Sehr vereinzelt kommen auch Zellen vor, die in ihrem gesamten Zytoplasma ANE-positiv sind. Diese sind etwas größer als die Drüsenzellen, oval bis tropfenförmig und liegen im Bindegewebe zwischen den einzelnen Drüsenschläuchen.

Die Zellen der Sammelräume und Ausführungsgänge werden an ihrem apikalen Rand von einem braun gefärbten Streifen gesäumt.

Im Bindegewebe der Drüsensepten sowie der Tunica muscularis sind stark gefärbte, feine Fasern zu finden. Die Muskulatur selbst, sowie die Ganglien des Plexus myentericus dagegen sind negativ.

4.3.3.1.2. Muskelmagen

Im Muskelmagen reagieren Zellen der Magendrüsen und Teile des Kera-
tinoids positiv mit ANE-Serum. Das Bindegewebe einschließlich aller
darin enthaltenen Strukturen sowie die Muskulatur verhalten sich negativ.
Ebenfalls negativ reagieren die Epithelzellen am Grund der Drüsen. Positiv
hingegen ist das basal und um den Kern gelegene Zytoplasma des

Oberflächenepithels sowie der Drüsenzellen im Gebiet der Mündungen. Dieselben Zellen weisen einen schmalen, braunen Rand an ihrem apikalen Ende auf.

Im Keratinoid treten säulenförmig angeordnete, geschichtete Ablagerungen von unregelmäßig körniger Gestalt auf.

4.3.3.2. Dynorphin 1-17

4.3.3.2.1. Drüsenmagen

Am Grund der oberflächlichen Drüsen finden sich regelmäßig Zellen, deren Zytoplasma ganz oder zumindest im apikalen Bereich positiv beim immunocytochemischen Dynorphin (Dyn)- Nachweis reagiert. Dabei ergibt sich ein körnig dunkelbraunes Aussehen dieser Zellen. In manchen Drüenschläuchen kann zusätzlich eine sehr schwache Färbung des Gebietes knapp oberhalb der Zellkerne, ähnlich wie bei ANE, beobachtet werden (Abb. 41).

In den tiefen Drüsen finden sich Bezirke mit stark angefärbten apikalen Zellarealen. Dies sind die apikale Zellmembran, der obere Teil der lateralen Zellmembran sowie, schwächer, das apikale Zytoplasma. Diese Bezirke liegen auf der, den oberflächlichen Drüsen abgewandten Seite der Sammelräume. Im übrigen zeigen sich auch hier körnige Ablagerungen an der Zellbasis (Abb. 42), wobei zu bemerken ist, daß diese wesentlich stärker in ihrer Intensität variieren, als bei ANE. Auch negative Bereiche kommen vor.

Das Epithel der Sammelräume reagiert in seinen apikalen Bereichen stark positiv. Ebenso verhält sich das Epithel im Anfangsteil der Ausführungsgänge. Die Ausführungsgänge werden im Gebiet ihrer Mündungen negativ.

4.3.3.2.2. Muskelmagen

Im Zytoplasma der Drüsenzellen des Muskelmagens läßt sich seitlich und apikal des Kerns immunoreaktives Dynorphin lokalisieren. Bei sehr abgeflachten Zellen kann sich dieses auch über die ganze Zelle, mit Ausnahme der Zellbasis unter dem Kern erstrecken. In einigen begrenzten Gebieten des Muskelmagens treten zusätzlich sehr stark positive apikale Zellbereiche, vor allem an den Drüsenmündungen auf Bindegewebe und Muskulatur reagieren beim immunocytochemischen Dyn- Nachweis nicht.

4.3.3.3. β - Endorphin

4.3.3.3.1. Drüsenmagen

Beim immunocytochemischen Nachweis von β - Endorphin (β - End) reagieren in den oberflächlichen Drüsen des Drüsenmagens die Epithelzellen in ihrem supranukleären Zytoplasmabereich positiv (Abb. 43). Dieses positive Areal beginnt am apikalen Rand des Zellkerns und bildet einen dunklen Streifen, welcher die Zellspitze nicht ganz erreicht. Die Intensität der Reaktion nimmt innerhalb des Epithels vom Drüsengrund zur Mündung hin ab.

Ebenso wie die beiden anderen endogenen Opiode, aber noch stärker ausgeprägt, läßt sich immunoreaktives β - End im basalen Zellabschnitt des tiefen Drüsenepithels nachweisen (Abb. 44).

Das Epithel der Sammelräume und Ausführungsgänge ist negativ.

Im Bindegewebe der Tunica muscularis zeigen sich vereinzelte, stark positiv reagierende Fasern.

4.3.3.3.2. Muskelmagen

In den tiefen Bereichen der Magendrüsen reagieren die apikalen Areale der Epithelzellen beim immunocytochemischen Nachweis von β - Endorphin stark positiv (Abb. 45). Zur Drüsenmündung hin reagiert auch das basale und um den Kern gelegene Zytoplasma immer stärker mit β - Endorphin- Serum. Muskulatur und Bindegewebe bleiben negativ.

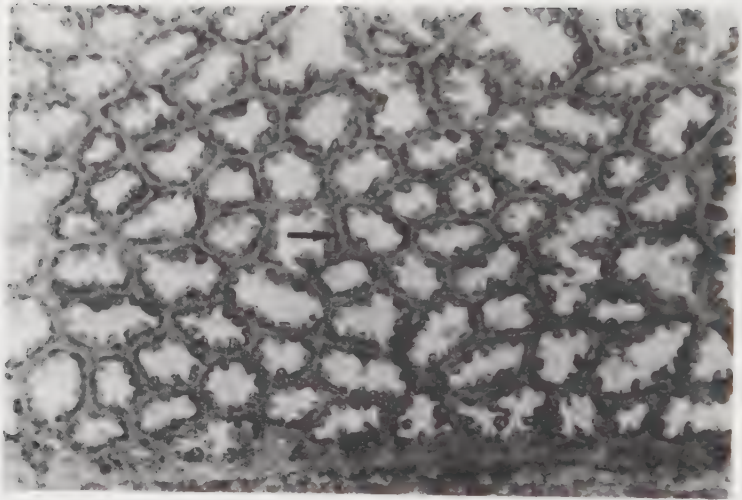


Abb. 40: Drüsenmagen, tiefe Drüsen, α -Neoendorphin- PAP, positive Reaktion an der Zellbasis ($\rightarrow$), x 400



Abb 41 Drüsenmagen, oberflächliche Drüsen, Dynorphin- PAP, positive Reaktion apikal des Zellkerns ($\rightarrow$), x 400

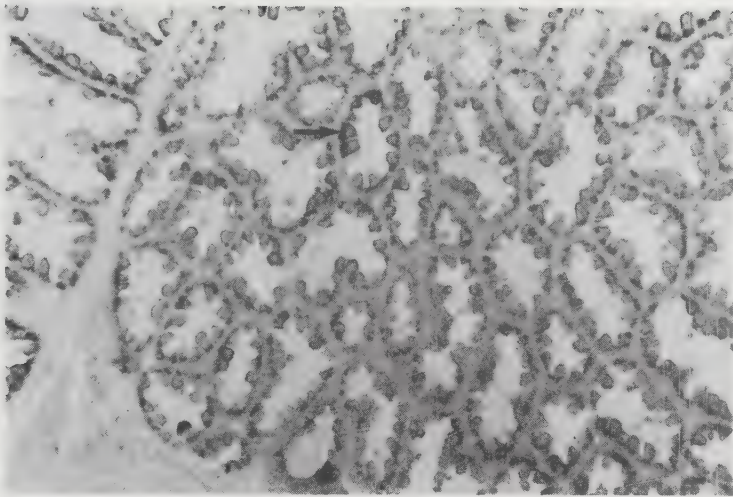


Abb. 42: Drüsenmagen, tiefe Drüsen, Dynorphin- PAP, positive Reaktion an der Zellbasis (->), x 400

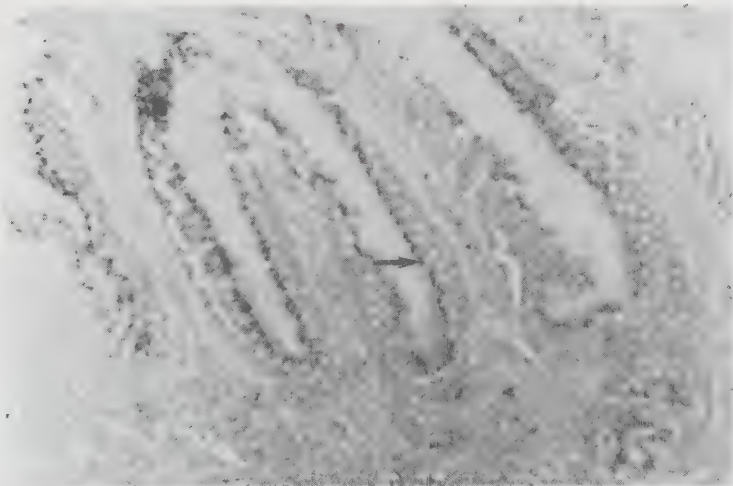


Abb. 43: Drüsenmagen, oberflächliche Drüsen, β - Endorphin- PAP, Zytoplasma apikal des Kerns positiv (->), x 400

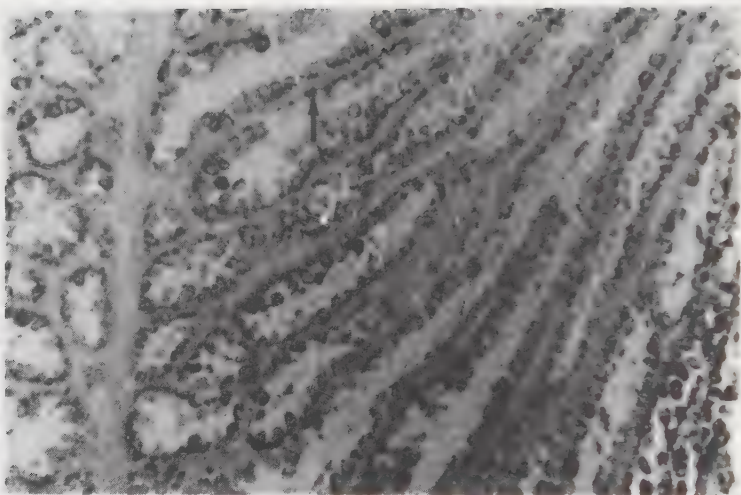


Abb. 44: Drüsenmagen, tiefe Drüsen, β - Endorphin- PAP, basales Zytoplasma stark positiv ($\rightarrow$), x 400

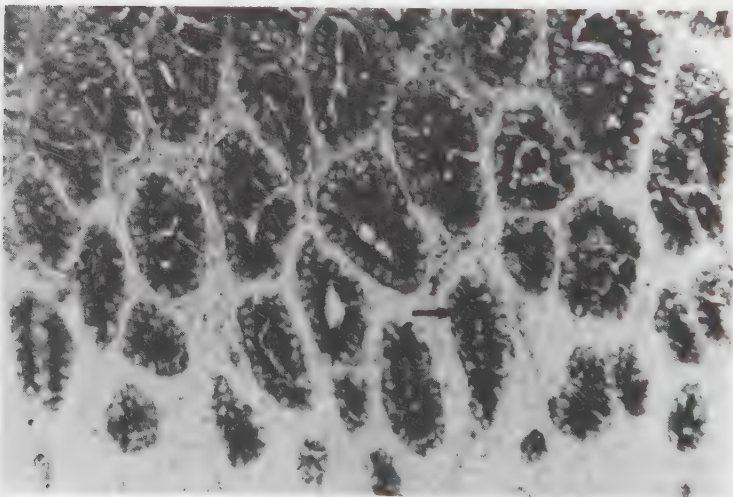


Abb. 45: Muskelmagen, Drüsenschicht, β - Endorphin- PAP, positive Reaktion des apikalen Zytoplasmas am Drüsengrund ($\rightarrow$), x 400

5. DISKUSSION

Der histologische Aufbau des Drüsenmagens der Wachtel gleicht im wesentlichen dem von MICHEL (1971) beschriebenen Bau des Drüsenmagens bei Huhn und Ente. Die Untersuchungsergebnisse von FITZGERALD (1972) an der Wachtel können durch die in dieser Arbeit gemachten Beobachtungen zum Teil nicht bestätigt werden.

In Übereinstimmung mit MICHEL (1971), jedoch im Gegensatz zu FITZGERALD (1972) erscheint der Übergang von der cutanen Schleimhaut des Oesophagus in die Drüenschleimhaut des Magens nicht allmählich, sondern abrupt. Zusätzlich zu der bereits von MICHEL (1971) erwähnten positiven Reaktion mit PAS, läßt sich das Schleimhautepithel auch mit Alcianblau anfärben. Dies läßt auf einen Gehalt an sauren Mucopolysacchariden schließen. Je nach Drüsentiefe wurde eine unterschiedliche Intensität der Färbung erzielt. Diese Beobachtung könnte im Zusammenhang mit Schwankungen der Sekretionsaktivität stehen oder aber durch eine chemisch unterschiedliche Zusammensetzung des Sekrets bedingt sein. Bei den im Semidünnschnitt beobachteten hellen Granula handelt es sich höchstwahrscheinlich um Sekrettröpfchen. Diese Annahme wird durch die gleichartige Färbung von Drüsenzellsitzen und Drüseninhalt mit PAS, Azan und Alcianblau unterstrichen.

Eine elektronenmikroskopische Untersuchung der oberflächlichen Drüsenzellen wurde nicht durchgeführt, doch decken sich die am semidünnen Präparat gewonnen Erkenntnisse mit den elektronenoptischen Ergebnissen von HORVATH (1974).

FITZGERALD (1972) findet unterhalb der oberflächlichen Drüsen eine dünne, unterbrochene Muskelschicht, die er als *Lamina muscularis mucosae* bezeichnet und als Trennungsschicht zwischen *Lamina propria mucosae* und *Tunica submucosa* ansieht. Hier stimmen die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit mit den Beobachtungen von FEDER (1972) überein, der feststellt,

daß der Hauptteil der Lamina muscularis mucosae außen um die tiefen Magendrüsen herumzieht und weiter oberflächlich gelegene Muskelfasern lediglich Abspaltungen derselben darstellen. Diese Muskelschicht ist als kräftige, longitudinale Lage deutlich erkennbar und kann somit nicht mit der inneren, zirkulären Lage der Tunica muscularis verwechselt werden. Die dazwischen gelegene Tunica submucosa ist sehr schwach. Die von FITZGERALD (1972) in der Tunica muscularis und Tunica submucosa beschriebenen Ganglien und Gefäße konnten in der Tunica muscularis und Lamina propria mucosae nachgewiesen werden.

Die tiefen Drüsen bilden Läppchen, von denen jedes einzelne einen eigenen Ausführungsgang zu besitzen scheint, da in keinem Fall eine Verzweigung der Ausführungsgänge oder Sammelräume zu beobachten war. Damit entsprechen sie nach LUPPA (1962) und MICHEL (1971) dem Aufbau der tiefen Drüsen bei der Ente und der Taube, nicht aber beim Huhn, bei welchem mehrere Läppchen in einen einzigen Gang münden.

Die bei der Azanfärbung an den Zellen des Drüsenepithels erkennbare unterschiedliche Färbung von Zellbasis und Zellspitze wird vermutlich durch die unterschiedliche Verteilung der Magensäure produzierenden Strukturen innerhalb der Zelle verursacht. Diese Ansicht wird sowohl durch die basophile Färbung der Zellspitze im H/E- Präparat, als auch durch die elektronenmikroskopisch sichtbare Häufung von Vesikeln und Tubuli im apikalen Zellteil unterstützt. Die kleinen Vesikel und Tubuli, die nach HORVATH (1974) dem glatten Endoplasmatischen Reticulum angehören könnten, sind nicht identisch mit den im Semidünnschnitt gefunden hellen Vesikeln. Bei den Vesikeln der Semidünnschnitte dürfte es sich um herausgelöste Fettröpfchen handeln, die offenbar innerhalb der Drüsentubuli sehr ungleichmäßig verteilt sind und nicht in allen Abschnitten vorkommen. Das elektronenmikroskopische Bild der Drüsenzellen konnte, so wie es von HORVATH (1974) dargestellt wird, durch eigene Untersuchungen bestätigt werden. Allerdings war der Golgi-Apparat

weniger ausgeprägt und der Kern bei sezernierenden Zellen weiter nach apikal verlagert. Ruhende und sezernierende Zellen konnten gleichzeitig in ein und demselben Drüsentubulus gefunden werden.

In silberimprägnierten Präparaten stellten sich zahlreiche argyrophile Zellen dar, deren Längsachse entlang der Basalmembran des Drüsenepithels verlief. Da elektronenmikroskopisch in derselben Lage Zellen mit einer großen Anzahl elektronendichter Granula gefunden wurden, handelt es sich dabei wahrscheinlich um die von HORVATH (1974) beschriebenen argentaffinen Zellen. Ihre Argentaffinität allerdings wurde in dieser Arbeit nicht überprüft. Die ebenfalls im Gewebe der tiefen Drüsen angetroffenen, Bodian- positiven feinen Fasern dürften Anschnitte von peripheren Nerven sein.

Das Epithel der Sammelräume und Ausführungsgänge wird nach Beobachtungen von LUPPA (1962) proximalwärts immer höher, bis es in das stark hochprismatische Oberflächenepithel mündet. Für die Wachtel trifft dies nicht zu. Hier hat das Epithel der Sammelräume etwa die Höhe des Oberflächenepithels, während die Zellen der Ausführungsgänge zur Mündung hin eher etwas niedriger werden. Die von MICHEL (1971) erzielte positive PAS- Reaktion der apikalen Zellränder in den ableitenden Drüsenkanälen konnte bei der Wachtel nur in den Ausführungsgängen, nicht aber in den Sammelräumen beobachtet werden. Da sich jedoch das Zytoplasma der Epithelzellen der Sammelräume sowohl mit Azan als auch mit Alcianblau blau färbt, scheint auch hier eine Produktion von Mucoid stattzufinden.

Die elektronenmikroskopisch nachgewiesenen basalen Spalten sind auf eine durch die Fixation verursachte Zellschrumpfung zurückzuführen. Dadurch erklärt sich auch das schaumige Aussehen des Zytoplasmas im Semidünnschnitt. Die elektronenmikroskopisch und im Semidünnschnitt beobachteten apikalen Granula dürften aus Mucopolysacchariden bestehen.

Die von NISHIDA (1968) beschriebene Gefäßversorgung des Drüsenmagens über arterielle und venöse Geflechte in der Magenwand scheint durch die

zahlreichen, in verschiedenen Richtungen angeschnittenen Gefäße bestätigt zu werden. Eine unterschiedlich tiefe Lage des arteriellen und des venösen Geflechts konnte allerdings nicht festgestellt werden, da Arterien und Venen in den meisten Fällen gemeinsam verlaufen.

Der Muskelmagen der Wachtel ist nach der Einteilung von CORNELIUS (1925) typisch für einen körnerfressenden Vogel ausgebildet. Er besitzt demnach eine sehr kräftige Tunica muscularis und eine harte, gut strukturierte Keratinoidschicht. Die ungleichmäßige Färbbarkeit bei verschiedenen Methoden wird auf eine unregelmäßige Verteilung von chemisch unterschiedlichen Inhaltsstoffen zurückgeführt. Dabei kann sowohl das Verhältnis zwischen Sekretsäulen und Grundsubstanz als auch die Zusammensetzung der Grundsubstanz selbst eine Rolle spielen. Unterschiede in Art und Menge der zu verschiedenen Zeiten aufgenommenen Nahrung, allgemeines körperliches Befinden, sowie – bereits von CORNELIUS (1925) festgestellt – die Lage über dicker oder dünner Muskulatur, dürften ihren Einfluß auf die Struktur des Keratinoids, seine Härte und so auch auf die regional spezifische Färbbarkeit ausüben.

Die Epithelzellen der sekretbildenden DrüsenSchläuche färben sich in ihrem apikalen Bereich in derselben Weise wie das von ihnen gebildete Sekret. Dabei nimmt die Intensität von der Drüsenbasis zur Drüsenmündung hin zu und wird im Oberflächenepithel am stärksten. Dies bestätigt, daß sämtliche Epithelzellen, wenn auch in verschiedenem Maße, an der Bildung des Keratinoids beteiligt sind. Eine Ausnahme findet sich bei der Azanfärbung, bei der die Zellspitzen blaß- blau sind, das Sekret in den DrüsenSchläuchen aber kräftig rot, während es an der Oberfläche teilweise wieder in ein blasses Blau übergeht. Dies läßt auf eine chemische Veränderung des Sekrets nach der Abgabe schließen, die später, wenn das Keratinoid an der Oberfläche angelangt ist, wieder rückgängig gemacht werden kann.

Im Gegensatz zu den Beobachtungen am Huhn (EGLITIS und KNOUFF, 1962) können bei der Wachtel saure Mucopolysaccharide mit Alcianblau nicht nur im Oberflächenepithel, sondern auch im Drüsenepithel nachgewiesen werden. Allerdings besitzen nur die Zellen des Oberflächenepithels unter der apikalen Zellmembran einen basophilen Rand, der auf sauren Inhalt hindeutet. Dieser Streifen ist auch im Semidünnschnitt sichtbar und deckt sich mit der von TONER (1964) beschriebenen Zone abgelagerter Sekretgranula.

Auch ultrastrukturell gleicht das Bild dieser Zellen den von TONER (1964) beschriebenen Hauptzellen beim Huhn.

Die von EGLITIS und KNOUFF (1962) beschriebene, gruppenweise Zusammenfassung mehrerer Drüsenschläuche kann für die Wachtel bestätigt werden, nicht jedoch die Aussage, daß sechs bis acht Drüsenschläuche gemeinsam in eine flache Krypte münden. Die Drüsentubuli gehen nach meinen Befunden bei der Wachtel einzeln und ohne die Ausbildung sichtbarer Krypten allmählich in das Oberflächenepithel über.

Die Epithelzellen der Muskelmagendrüsen nehmen nicht, wie von TONER (1964) beobachtet, vom Drüsengrund zur Mündung an Höhe zu, sondern bleiben gleich hoch oder sind durch den Druck des sezernierten Keratinoids abgeflacht. An der Drüsenmündung gehen sie innerhalb von drei bis vier Zellen in das hochprismatische Oberflächenepithel über. Sowohl EGLITIS und KNOUFF (1962) als auch TONER (1964) beschreiben im Epithel des Drüsengrundes Zellen mit blassem Kern und hellem Zytoplasma. In der vorliegenden Arbeit wurden Zellen mit der beschriebenen Gestalt und in der beschriebenen Anzahl (eine bis drei) in der gesamten Höhe der Drüsenschläuche gefunden. Nach elektronenmikroskopischen Beobachtungen handelt es sich dabei um zwei verschiedene Zellpopulationen. Die erste Population zeigt mit tropfenartiger Form und zahlreichen Granula das typische Bild enteroendokriner Zellen und entspricht damit dem von EGLITIS und KNOUFF (1962) beschriebenen zweiten Typ sekretorischer

Zellen im Muskelmagen. Die zweite Population gleicht in Aussehen und Lage am Grund der Drüsen den von TONER (1964) beobachteten Stammzellen des Drüsenepithels. Die wenigen, im Zytoplasma gefundenen Granula deuten darauf hin, daß es sich dabei um Übergangsformen zwischen Stammzellen und reifen Drüsenzellen handelt.

Die übrigen Strukturen des Muskelmagens zeigen bei der Wachtel im Vergleich zum Aufbau bei anderen Vögeln keine besonderen Abweichungen.

Neben dem Einfluß der jeweiligen Versuchsbedingungen muß bei der Interpretation der Lektinbindungsversuche die Spezifität der Lektine berücksichtigt werden. Da jedes Lektin nicht nur mit einem einzigen Kohlenhydrat reagiert, kann keine eindeutige Aussage über das Vorkommen eines bestimmten Zuckers in einem bestimmten Gewebsanteil gemacht werden. Man kann lediglich davon sprechen, daß Bindungsstellen für ein Lektin vorhanden oder nicht vorhanden sind.

Bei den in dieser Arbeit ausgewerteten Versuchen waren die Ergebnisse bei gleichem Lektin/Marker- Konjugat und gleichem Gewebe jederzeit reproduzierbar. Die Versuchsbedingungen waren folglich trotz der bekannten Empfindlichkeit der Lektine gegenüber pH- Wert, Temperatur, Zeit, Ionenkonzentration etc. ausreichend standardisiert. Da bei kompetitiver Hemmung der Lektine mit einem spezifischen Zucker die Ergebnisse stets negativ ausfielen, kann auch die Spezifität der Bindungsreaktion als gesichert gelten. Die teilweise beträchtlichen Unterschiede zwischen verschiedenen Lektinen gleicher nomineller Spezifität sowie zwischen gleichen Lektinen, die mit verschiedenen Markern gekoppelt waren, liegen daher entweder in den speziellen Versuchsbedingungen oder in anderen, nicht näher definierbaren, Einflüssen begründet.

Verschiedene Lektine bevorzugen, auch bei Spezifität für den selben Zucker, verschiedene pH-Werte, Temperaturen etc. für eine optimale Bindung an ihre Rezeptoren. Es ist denkbar, daß die vom Hersteller

empfohlenen und in dieser Arbeit eingehaltenen Werte nicht immer zu einem optimalen Ergebnis führen. Ebenso könnten Lektine gleicher Spezifität, aber mit verschiedenem Molekulargewicht und somit unterschiedlicher Gestalt und Größe, in verschiedenem Maße an eine bestimmte Gewebstruktur gebunden werden. Dabei spielen vermutlich die von GOLDSTEIN (1980) beschriebenen multivalenten Beziehungen zwischen Lektin und Glykokonjugat eine Rolle, die zwar im Idealfall für eine hohe Affinität zwischen Lektin und Gewebe sorgen, andererseits aber eine starke Abhängigkeit der Bindungskraft von der räumlichen Struktur der beiden Bindungspartner bedingen. Weiterhin können identische Lektine durch die Anlagerung von verschiedenen Markern in ihrer Quartärstruktur und damit auch in ihrem Bindungsvermögen beeinflusst werden. Darüber hinaus spielt auch die Wahl einer bestimmten Fixationsmethode bei der Lektinbindung eine Rolle, wie bereits die Arbeiten von GONNELLA und NEUTRA (1985) an unfixierten und Aldehydfixierten Ileumpräparaten sowie von ALLISON (1987) an mit verschiedenen Methoden fixierten Präparaten von unterschiedlichem Gewebe zeigen. Die hierbei erzielten Ergebnisse könnten darauf zurückgeführt werden, daß manche Fixationsmittel Änderungen an der Zelloberfläche herbeiführen, indem sie endständige Zuckermoleküle abspalten und dadurch interne Zucker für die Lektinbindung zugänglich machen. Ein im Rahmen der vorliegenden Arbeit durchgeführter Versuch zeigt, daß auch durch die Wahl des verwendeten Puffers das Bindungsvermögen eines Lektins verändert werden kann (PNA-HRP mit PBS- bzw. Trispuffer). Dieses Ergebnis kann mit dem unterschiedlichen Einfluß verschiedener Ionen auf das Reaktionsvermögen der Lektine erklärt werden. Wie die Vielzahl von Möglichkeiten, das Bindungsverhalten zu ändern, verdeutlicht, kann eine Interpretation der Ergebnisse nur mit großer Vorsicht vorgenommen werden. Allerdings ist die Wahrscheinlichkeit für falsch negative Ergebnisse deutlich höher als für falsch positive, so daß man im Falle positiver Ergebnisse von tatsächlich vorhandenen Lektin-

bindungsstellen ausgehen kann. Bei Lektinen, die völlig oder fast völlig negativ reagieren, muß neben der Abwesenheit eines korrespondierenden Zuckers und der Veränderung der Struktur durch den Marker auch eine fehlerhafte Lektincharge in Betracht gezogen werden.

Die Keratinoidschicht des Muskelmagens bindet, zumindest an ihrer Oberfläche, einzelne Lektine von allen fünf untersuchten Gruppen. Dies spricht für die Anwesenheit von Vertretern aller Kohlenhydratgruppen. Die Beschränkung der Lektinbindung auf die Keratinoidoberfläche konnte darauf zurückzuführen sein, daß die Kohlenhydrate im Inneren des Keratinoids für den histochemischen Nachweis nicht zugänglich sind. Con A wäre in diesem Fall das einzige Lektin, das, wegen seines Durchdringungsvermögens oder anderer physikalisch- chemischer Eigenschaften, in der Lage ist, Kohlenhydrate innerhalb des Keratinoids zu binden. Andererseits muß auch an die Möglichkeit gedacht werden, daß Lektine an der Oberfläche des Keratinoids durch unspezifische Vorgänge adsorbiert werden.

Die Epithelzellen sowohl der Drüsen des Muskelmagens als auch der oberflächlichen und tiefen Drüsen des Drüsenmagens binden Lektine vorzugsweise an ihrer apikalen Zellmembran. Dieselbe Beobachtung machten ETZLER und BRANSTRATOR (1974), TRIMBLE und THOMPSON (1976), SATO und SPICER (1982) sowie GONELLA und NEUTRA (1985), die Lektinbindungsstellen im Bereich der apikalen Plasmamembran oder der Mikrovilli an Darmepithelzellen verschiedener Spezies feststellten. Lediglich SATO und SPICER (1982) gelang zusätzlich der Nachweis von PNA- Bindungsstellen im Inneren der Zellen an bestimmten Golgi- Zisternen.

Bei einzelnen Zellen am Grund der oberflächlichen Drüsen des Drüsenmagens konnte gezeigt werden daß sie in ihrem Zytoplasma GS-1 spezifisch binden, während MPA, das dieselbe Kohlenhydratspezifität wie GS-1 besitzt, diese Zellen nicht färbt. Die Funktion dieser Zellen ist zur Zeit noch nicht klar.

Ein weiteres interessantes Phänomen ist die Bindung von GS-1, GS-2 und

HPA an einzelne Alveolen der tiefen Drüsen des Drüsenmagens. Da sich die Färbung bei Serienschnitten immer an denselben Stellen wiederholt, kann ein Artefakt ausgeschlossen werden. Vermutlich ist diese Reaktion durch eine örtlich begrenzte, veränderte Zusammensetzung des Sekretionsprodukts bedingt.

Das Lektinbindungsmuster der Gefäßendothelien deutet darauf hin, daß Zucker aus allen Kohlenhydratgruppen, ausgenommen Fucose, in der Gefäßwand vorkommen. In Übereinstimmung mit den Beobachtungen von PLENDL (1986) an Gefäßendothelien im Gehirn der NMRI-Maus konnten auch im Muskelmagen der Wachtel Bindungsstellen für DBA nachgewiesen werden.

Nach den hier vorliegenden Ergebnissen stellen sich mit einigen Lektinen bestimmte Gewebsanteile des Drüsen- und Muskelmagens der Wachtel selektiv dar. So binden sich WGA und Con A an die Epithelzellen sowohl des Drüsen- als auch des Muskelmagens. DBA-HRP, SBA-HRP, RCA-1-HRP und RCA-2-FITC sind als Marker für das Epithel der tiefen Drüsen des Drüsenmagens zu verwenden. Am Muskelmagen ist die Markierung der Zellen an der Drüsenmündung und des Oberflächenepithels mit MPA-FITC, PNA-FITC, RCA-2-FITC, SBA-HRP und RCA-1-HRP möglich. Zur Markierung der Gefäßendothelien könnten Con A-FITC, WGA-FITC und WGA-HRP herangezogen werden. Man könnte dieses Verhalten nutzen, um Zellen oder bestimmte Zellstrukturen aus dem Gewebsverband zu isolieren.

Im Gegensatz zu den Beobachtungen von IWANAGA und YAMADA (1980) am Huhn konnten in der vorliegenden Arbeit keine Hinweise für das Vorkommen von Sekretinzellen im Drüsenmagen der Wachtel gefunden werden. Dabei ist zu beachten, daß IWANAGA und YAMADA (1980) den Nachweis auf elektronenmikroskopischem Weg führten, während hier ein lichtmikroskopischer Nachweis mit Anti-Sekretin-Serum versucht wurde. Die von den genannten Autoren beschriebenen Zellen gleichen ultrastrukturell den S- (Sekretin-) Zellen der Säugetiere. Dies bedeutet jedoch nicht, daß

es sich auch beim Huhn um solche handeln muß. Es würde sich eine Deutung als Somatostatinzellen anbieten, die ultrastrukturell ähnlich sind und deren Form und Lage mit den beschriebenen Zellen übereinstimmt. Auch der negative Ausfall der immunocytochemischen Versuche stellt keinen Beweis für das Fehlen von Sekretinzellen dar. So wäre es möglich, daß das verwendete, humanspezifische Serum nicht in der Lage ist, mit aviärem Sekretin zu reagieren. Weiterhin wäre es denkbar, wenn auch unwahrscheinlich, daß zwar das Huhn, nicht aber die Wachtel Sekretinzellen im Drüsenmagen besitzt.

Im Muskelmagen wurden - in Übereinstimmung mit meinen eigenen Beobachtungen - von keinem Autor Sekretin- positive Zellen nachgewiesen. Lediglich im Pylorusbereich fanden YAMADA et al. (1978) in elektronenmikroskopischen Untersuchungen solche Zellen. Die in der vorliegenden Arbeit gemachte Beobachtung, daß immunoreaktive Sekretinzellen im gesamten Magen der Wachtel fehlen, wird durch Untersuchungsergebnisse von POLAK et al. (1974), HAZELWOOD (1981) und RAWDON und ANDREW (1981) unterstützt, die ebenfalls keine Sekretin- positiven zellen im Vogelmagen fanden.

Weder in der Literatur noch bei eigenen Untersuchungen ließen sich Hinweise auf ein Vorkommen von Substanz P- positiven Zellen im Vogelmagen finden. Auch die von BRODIN et al. (1981) beim Huhn sowie von TANGE (1983) beim Hund beschriebenen, Substanz P positiven Nervenzellen und -fasern in der Magenmuskulatur und im Plexus myentericus, konnten in meinen Untersuchungen nicht nachgewiesen werden. Dies könnte bedeuten, daß bei der Wachtel keine immunoreaktive Substanz P vorliegt, oder aber, daß das verwendete Antiserum zum Nachweis aviärer Substanz P ungeeignet ist.

Gastrin- positive Zellen treten im Muskelmagen in zwei unterschiedlichen Formen auf. Die erste Gruppe besteht aus schwach positiven, vereinzelter Zellen, die im Epithel des gesamten Muskelmagens verteilt liegen und das

Lumen nicht erreichen (geschlossener Typ). In diesem Bereich werden in der Literatur keine immunocytochemisch nachgewiesenen Gastrinzellen beschrieben. Die schwache Färbung könnte darauf hindeuten, daß es sich bei dieser Zellgruppe nicht um Gastrinzellen handelt, sondern daß das positive Ergebnis durch eine Kreuzreaktion mit einem anderen Magenhormon verursacht wird. In Frage käme dabei Cholecystokinin, das eine gastrin-ähnliche Struktur aufweist und bereits im Magen nachgewiesen wurde (LARSSON et al., 1974, RAWDON und ANDREW, 1981). Die zweite Gruppe von Gastrin- immunoreaktiven Zellen findet sich im Bereich des Magen- ausgangs. Diese Zellen sind häufiger und stärker gefärbt als die der ersten Gruppe und erreichen apikal das Drüsenlumen (offener Typ). Sie scheinen identisch mit den von LARSSON et al. (1974) sowie von YAMADA (1979) beschriebenen Gastrinzellen. Die von OLOWO- OKORUN und AMURE (1973) nachgewiesene gastrinartige biologische Aktivität im Drüsenmagen des Huhns sowie die von ANDREW (1976) elektronenmikroskopisch beobachteten G- Zellen im Drüsenmagen frisch geschlüpfter Küken konnten in meiner Arbeit immunocytochemisch nicht bestätigt werden.

In Übereinstimmung mit den Angaben in der Literatur wurden mit Somatostatin positiv reagierende Zellen in den oberflächlichen und tiefen Drüsen des Drüsenmagens sowie im Drüsenepithel im Bereich des Muskelmagenausgangs (Pylorus) nachgewiesen (ANDREW, 1976, ALUMETS, 1977, RAWDON und ANDREW, 1981, YAMADA, 1985, YAMAGUCHI et al., 1986). Allerdings sind sie nicht, wie in der Literatur beschrieben, am häufigsten im Pylorusgebiet, sondern wesentlich zahlreicher im Drüsenmagen. Im Pylorusbereich kommen sie nur vereinzelt vor. Eine in der Literatur nicht erwähnte Gruppe von Somatostatin- immunoreaktiven Zellen konnte im Bereich des caudalen Blindsacks des Muskelmagens nachgewiesen werden. Da die Spezifität des verwendeten Somatostatin- Serums laut Herstellerangabe hoch ist (keine Kreuzreaktion mit Glucagon, Insulin, Gastric Inhibitory Polypeptide und Vasoactive Intestinal

Polypeptide) und die Somatostatin- positiven Zellen im caudalen Blindsack in Lage, Form und Reaktionsintensität außerdem denen im Pylorusgebiet gleichen, scheint es sich tatsächlich um eine Gruppe von Somatostatinzellen zu handeln.

In den tiefen Drüsen des Drüsenmagens kommen Somatostatin- positive Zellen nicht nur, wie von YAMADA (1985) beschrieben, im mittleren Abschnitt vor, sondern gleichmäßig verteilt in allen Bereichen der Drüsen.

In Form und Ultrastruktur entsprechen die in dieser Arbeit gefundenen, Somatostatin- positiven Zellen den von ANDREW (1976), ALUMETS (1977), YAMADA (1978) und IWANAGA und YAMADA (1980) beschriebenen D- oder Somatostatinzellen.

Endogene Opiode wurden zunächst im Gehirn und anderen neuronalen Geweben entdeckt (HUGHES et al., 1975), inzwischen aber auch häufig in anderen, vor allem endokrinen Zellen verschiedener Organe nachgewiesen (GRUBE, 1978, WATKINS et al., 1980, GOLDSTEIN, 1983, CETIN, 1985). Auch im Magen- Darm- Trakt fanden verschiedene Autoren (POLAK, 1977, SPAMPINATO und GOLDSTEIN, 1983) endogene Opiode in nicht zum Nervensystem gehörenden Zellen. In der vorliegenden Arbeit wurden endogene Opiode auf immunocytochemischem Weg vorwiegend in den exokrinen Drüsenzellen sowohl des Drüsen- als auch des Muskelmagens nachgewiesen. Dabei ist bemerkenswert, daß die Zellen in den tiefen Drüsen des Drüsenmagens mit allen drei verwendeten Seren deutlich positiv reagieren. Ein ähnliches Ergebnis erzielte CETIN (1985), der β -Neoendorphin, Dynorphin und α - Endorphin in den α - Zellen im Pankreas der Ratte nachwies. Nicht bestätigt werden konnte dagegen das Ergebnis von WATKINS et al. (1980), die endogene Opiode in D- (Somatostatin-) Zellen feststellten. Die Somatostatin- immunoreaktiven Zellen im Wachtelmagens reagierten mit keinem der drei verwendeten Seren gegen α - Neoendorphin,

Dynorphin und β - Endorphin. Es kann allerdings nicht mit Sicherheit ausgeschlossen werden, daß Kreuzreaktionen der endogenen Opiode untereinander, mit [Met]- oder [Leu]- Enkephalin, mit einem Precursor oder mit einem sonstigen, unbekannten Eiweißmolekül vorliegen. Vor diesen Kreuzreaktionen warnen in ihren Arbeiten bereits GRUBE (1980) und GOLDSTEIN (1984). Die Ergebnisse weichen allerdings in den oberflächlichen Drüsen des Drüsenmagens und im Muskelmagen weit genug von einander ab, um eine Reaktion der verschiedenen Seren mit identischen Eiweißkörpern ausschließen zu können. Aus einer positiven Reaktion kann also nicht sicher auf das Vorliegen des entsprechenden endogenen Opioids geschlossen werden. Eine positive Reaktion zeigt allerdings die Anwesenheit eines für jedes Serum spezifischen, mit dem endogenen Opioid strukturell zumindest verwandten Eiweißmolekül an.

Was die Funktion der endogenen Opiode im Wachtelmagen betrifft, so können nur bereits vorliegende Ergebnisse von anderen Tieren und anderen Organen als Grundlage der Überlegungen herangezogen werden. Eine sichere Aussage kann dabei nicht gemacht werden, da endogene Opiode in verschiedenen Organen unterschiedliche Wirkungen haben, andererseits aber jedes endogene Opioid bei genügender Konzentration jede in Frage kommende Wirkung ausüben kann (GOLDSTEIN, 1984). In verschiedenen Organen sind endogene Opiode an der Regulierung der Hormonsekretion beteiligt, so etwa im Nebennierenmark (KAKIDANI, 1984) oder im Pankreas (GRUBE, 1978, WATKINS et al., 1980, CEIIN, 1985). Diese Funktion könnte auch für den Wachtelmagen zutreffen, wo die Ausschüttung der Magenhormone beeinflußt werden könnte. Ein regulierender Einfluß auf die Sekretionsaktivität ist auch gegenüber den exokrinen Drüsenzellen denkbar. Dabei könnte eine lokale, gewebshormonartige Wirkung auftreten, wie sie von UDENFRIEND und KILPATRICK (1984) in ihrer Arbeit erwähnt wird. Bei den mit Anti- α - Neendorphin und Anti- β - Endorphin positiv reagierenden Zellen und Fasern im Bindegewebe dürfte es sich um Nervenzellen und

-fasern handeln. Damit kann eine transmitterartige Funktion verbunden sein, wie sie ebenfalls von UDENFRIEND und KILPATRICK (1984) beschrieben wird. Eine hormonartige Wirkung über das Gefäßsystem können die Zellen ausüben, in denen endogene Opiode an der Zellbasis gelagert und wahrscheinlich auch nach basal, zu den Gefäßen hin, abgegeben werden, d. h. die Zellen der tiefen Drüsen des Drüsenmagens sowie die Zellen des Oberflächenepithels und der Drüsenmündungen im Muskelmagen. Möglicherweise wird durch hormonartiges Wirken der endogenen Opiode eine Kontraktion der Magenmuskulatur ausgelöst, wie sie BITAR und MAKHLOUF (1982) mit [Met]- Enkephalin, [Leu]- Enkephalin und Dynorphin an Muskelzellen des Meerschweinchenmagens beobachteten. Eine andere Funktion könnte in der von PRETZLAFF (1984) beschriebenen Ruhigstellung der Magenmuskulatur durch eine Senkung des ACTH- Spiegels bestehen. Dabei spielen für die Ausschüttung der endogenen Opiode vermutlich Streßfaktoren eine Rolle. Auch verschiedene Wirkungen eines endogenen Opioids in einer Zelle oder veränderliche Opioidwirkungen in einem bestimmten Zelltyp wären denkbar. Dafür spricht das gleichzeitige Vorkommen eines endogenen Opioids an der Basis und an der Spitze bestimmter Zellen (immunoreaktives α - Neoendorphin in Drüsenzellen des Muskelmagens), und weiterhin das sich mit der Drüsentiefe ändernde Vorkommen eines endogenen Opioids (immunoreaktives β - Endorphin in den Drüsen des Muskelmagens).

Die mit allen drei Seren häufig auftretende positive Reaktion seitlich und apikal des Kerns dürfte auf Zwischen- oder Endprodukte des Processing der endogenen Opiode in den Golgi- Zisternen zurückzuführen sein.

Die endgültige Klärung des Vorkommens von endogenen Opioiden im Magen der Wachtel und deren Funktion bleibt eingehenden chemischen, histochemischen und physiologischen Untersuchungen vorbehalten.

6. ZUSAMMENFASSUNG

In der vorliegenden Arbeit wurden die Morphologie und Histochemie der Drüsen- und Muskelmagen von 30 japanischen Wachteln mit licht- und elektronenmikroskopischen Methoden untersucht. Besonderer Wert wurde dabei auf die histochemische Darstellung von Lektinbindungsstellen, von enteroendokrinen Zellen und von endogenen Opioiden gelegt.

Die Ergebnisse können folgendermaßen zusammengefaßt werden:

- Der histologische Aufbau des Wachtelmagens stimmt im wesentlichen mit dem in der Literatur beschriebenen Aufbau des Magens anderer körnerfressender Vögel überein. Auch die Ultrastruktur der Epithelzellen des Drüsen- und des Muskelmagens zeigte im Vergleich zum Huhn nur geringfügige Abweichungen. Somit bietet sich die Wachtel als Modell für die Verdauungsorgane des Nutzgeflügels an.
- Die Verteilung von Lektinbindungsstellen, die anhand von dreizehn mit Peroxidase oder Fluorescein gekoppelten Lektinen bestimmt wurde, zeigte, daß besonders die apikalen Zellmembranen der Epithelzellen eine spezifische Affinität zu einigen Lektinen aufwiesen. Manche Lektine sind zur Verwendung als Marker für bestimmte Zellen oder Zellstrukturen geeignet (Con A und WGA für Epithelzellen im Drüsen- und Muskelmagen sowie für Gefäßendothelien; DBA, SBA, RCA-1 und RCA-2 für Epithelzellen in den tiefen Drüsen des Drüsenmagens; MPA, PNA, RCA-1, RCA-2 und SBA für Drüsenzellen im Muskelmagen).
- Mit Hilfe von immunocytochemischen Methoden (PAP- Methode nach STERNBERGER, 1979) wurden gastrointestinale Hormone und endogene Opiode lokalisiert. Dabei fanden sich im Drüsenmagen Somatostatin-positive Zellen in den oberflächlichen und tiefen Drüsen. Im Muskelmagen konnten mit Anti- Somatostatin und mit Anti- Gastrin reagierende Zellen in den Keratinoiddrüsen nachgewiesen werden. Dagegen wurden keine Substanz P oder Sekretin enthaltenden Zellen gefunden. Diese Ergebnisse

entsprechen im wesentlichen den Beobachtungen bei anderen Vogelarten. Hervorzuheben ist jedoch eine bisher nicht beschriebene, Somatostatin-positive Zellpopulation im caudalen Blindsack des Muskelmagens.

- Bei den endogenen Opioiden (α -Neoendorphin, Dynorphin und β -Endorphin) ergab sich eine positive Reaktion in den exokrinen Drüsenzellen des Drüsen- wie auch des Muskelmagens. Besonders auffällig war die regelmäßig auftretende Reaktion an der Basis der Epithelzellen in den tiefen Propriadrüsen des Drüsenmagens. Dagegen konnte in den endokrinen Zellen sowie in den Nervenzellganglien keines der genannten endogenen Opioide nachgewiesen werden.

7. SUMMARY

Histological, histochemical and ultrastructural investigations of the proventriculus and gizzard of the japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*).

In this work at hand, the morphology and histochemistry of the proventriculi and gizzards of 30 japanese quails were investigated by light and electron microscopical methods. Great store was set by the histochemical presentation of lectin binding sites, of enteroendocrine cells and of endogenous opioids.

The results can be resumed as follows:

- The histological structure of the quail's stomach is essentially similar to the stomachs of other grain eating birds as described in literature. The ultrastructure of the epithelial cells of the proventriculus and gizzard as well only showed little divergency, compared with the chicken. The quail, therefore, can be presented as a model for the digestive tract of the fowl.
- The distribution of lectin binding sites, determined by the use of thirteen peroxidase- or fluorescein- conjugated lectins, proved that the apical membranes in particular showed specific affinity to some of the lectins. A few lectins are apt for use as markers for certain cells or cellular structures (Con A and WGA for epithelial cells in the proventriculus and gizzard and for blood vessel endothels; DBA, SBA, RCA-1 and RCA-2 for epithelial cells in the deep propria glands of the proventriculus; MPA, PNA, RCA-1, RCA-2 and SBA for glandular cells in the gizzard).
- By use of immunocytochemical methods (PAP- method by STERNBERGER, 1979), gastrointestinal hormones and endogenous opioids were localized. In the proventriculus, Somatostatin- immunoreactive cells were discovered in the superficial and deep propria glands. In the gizzard, cells reacting with Antisomatostatin and with Antigastrin could be

demonstrated in the keratinoid glands. However, no cells containing Substance P or Secretin could be found. These results essentially correspond to the observations made with other species of birds. But one Somatostatin positive cell population in the caudal blind sack, not described as yet, should be emphasized.

- Concerning the endogenous opioids (α - Neoendorphin, Dynorphin and β - Endorphin) there was a positive reaction in the exocrine gland cells of the proventriculus and gizzard. A striking feature was the regularly occurring reaction at the base of the epithelial cells in the deep propria glands of the proventriculus. In contrast to the above mentioned, none of those endogenous opioids could be demonstrated in the endocrine cells and in the nerve cell ganglia.

8. ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

A.:	Arteria
ACTH:	Adrenocorticotropes Hormon
End.:	Endorphin
Enk.:	Enkephalin
FITC:	Fluorescein- Isothiocyanat
Gly:	Glycin
H/E:	Hämatoxylin/Eosin
HRP:	Meerrettich- Peroxidase
ICC:	Immunocytochemie
Leu:	Leucin
LHRH:	Luteinizing Hormone Releasing Hormone
LPH:	Lipotropin
Met:	Methionin
Mm.:	Musculi
PAP:	Peroxidase- Antiperoxidase
PAS:	Periodic Acid Schiff
PBS:	Phosphate Buffered Saline
Phe.	Phenylalanin
R.:	Ramus
Tyr:	Tyrosin
V.:	Vena
ZNS:	Zentrales Nervensystem

Lektinbezeichnungen:

Con A:	Concavalin A
DBA:	Dolichos biflorus agglutinin
GS-1:	Griffonia simplicifolia 1
GS-2:	Griffonia simplicifolia 2
HPA:	Helix pomatia agglutinin
MPA:	Maclura pomifera agglutinin
PNA:	Peanut agglutinin
RCA-1:	Ricinus communis agglutinin 1
RCA-2:	Ricinus communis agglutinin 2
SBA:	Soy bean agglutinin
UEA-1:	Ulex europaeus agglutinin 1
UEA-2:	Ulex europaeus agglutinin 2
WGA:	Wheat germ agglutinin

Zuckermolekülbezeichnungen.

Fuc.:	Fucose
Gal.:	Galactose
GalNAc.:	N- Acetyl- Galactosamin
Glc.:	Glucose
GlcNAc.:	N- Acetyl- Glucosamin
Man.:	Mannose
Neu5Ac.:	Acetyl- Neuraminsäure

9. LITERATURVERZEICHNIS

ALLISON, R. T., 1987:

The effects of various fixations on subsequent lectin binding to tissue sections

J. Histochem., 19: 65-74

ALUMETS, J., F. SUNDLER, R. HÅKANSON, 1977:

Distribution, ontogeny and ultrastructure of Somatostatin immunoreactive cells in the pancreas and gut.

Cell Tissue Res., 185: 465-479

ALUMETS, J., M. EKCLUND, H. A. EL MUNSHID, R. HÅKANSON, I. LORÉN, F. SUNDLER, 1979:

Topography of Somatostatin cells in the stomach of the rat: possible functional significance.

Cell Tissue Res., 202: 177-188

ANDREW, A., 1976:

Endocrine cells of the stomach of chicks around the time of hatching.

Cell Tissue Res., 172: 553-561

BAUER, M., 1901:

Beitrag zur Histologie des Muskelmagens der Vögel.

Arch. mikr. Anat., 57: 653-674

BENNETT, T., und J. L. S. COBB, 1969:

Studies on the avian gizzard. Morphology and innervation of the smooth muscle.

Z. Zellforsch., 96: 173-185

BEYER, H., 1976:

Lehrbuch der organischen Chemie, 18. Aufl.

Hirzel Verl., Stuttgart, 743-745

BITAR, K. N., und G. M. MAKHLOUF, 1982:

Specific opiate receptors on isolated mammalian gastric smooth muscle cells.

Nature, 297: 72-74

BOYD, W. C., und E. SHAPLEIGH, 1954:

Antigenic relations of blood group antigens as suggested by tests with lectins.

J. Immunol., 73: 226-231

BRAZEAU, P., W. VALE, R. BURGUS, N. LING, M. BUTCHER, J. RIVIER, R. GUILLEMIN, 1973:

Hypothalamic polypeptide that inhibits the secretion of immunoreactive pituitary growth hormone.

Science, 179: 77-79

BRODIN, E., J. ALUMETS, R. HAKANSON, S. LEANDER, F. SUNDLER, 1981:

Immunoreactive Substance P in the chicken gut: distribution, development and possible functional significance.

Cell Tissue Res., 216: 455-469

BROWN, J. C., und R. C. HUNT, 1978:

Lectins.

Intern. Rev. Cytol., 52: 277-349

BUSSOLATI, G., und M. G. CANESE, 1972:

Electron microscopical identification of the immunofluorescent gastrin cells in the cat pyloric mucosa.

Histochemie, 29: 198-206

CANESE, M. G., und G. BUSSOLATI, 1974:

Correlative light and electron microscopical studies on the G (gastrin) and D endocrine cell types of the human pyloric mucosa

Rc. Gastroent., 6: 12-22

CETIN, Y., 1985:

Immunohistochemistry of β - Neoeendorphin and Dynorphin in the endocrine pancreas of rat and man.

Histochemistry, 83: 369-373

CORNSELIUS, C., 1925:

Morphologie, Histologie und Embryologie des Muskelmagens der Vögel.

Gegenbaurs Morph. Jb., 54: 507-559

DUKE, G. E., 1986:

Alimentary canal: anatomy, regulation of feeding, and motility, in: Avian physiology, 4. Aufl., P. D. Sturkie (Hrsg.), NY, 269-288

DULANEY, J. T., 1979:

Binding interactions of glykoproteins with lectins. Molecular and Cellular Biochemistry, 21: 43-61

EGLITIS, I., und R. A. KNOUFF, 1962:

An histological and histochemical analysis of the inner lining and glandular epithelium of the chicken gizzard.

Am. J. Anat., 111: 49-66

ERSPAMER, V., G. F. ERSPAMER, G. LINARI, 1977:

Occurence of tachykinins (physalaemin- or substance P- like peptides) in the amphibian skin and their actions on smooth muscle preparations, in:

Substance P, U. S. von Euler, B. Pernow (Hrsg.), Raven Press, NY, 67-74

ETZLER, M. E., und M. L. BRANSTRATOR, 1974:

Differential localization of cell surface and secretory components in rat intestinal epithelium by use of lectins.

J. Cell Biol., 62: 329-343

EYSSELEIN, V., M. V. SINGER, H. GOEBELL, 1983.

Hormone des Verdauungstrakts.

Med. Klin., 78, 214-221

FEDER, F.-H., 1972:

Zur Lage der tiefen Drüsen im Proventriculus verschiedener Vogelarten.

Abstract in Zbl. Vet. Med., C, 1: 266

FITZGERALD, T. C., 1969:

The coturnix quail: anatomy and histology.

Iowa State Univ. Press, Ames, Iowa, 216-221

FUJITA, T., 1976:

The gastro- enteric endocrine cell and its paraneuronic nature, in: Chromaffin, enterochromaffin and related cells, R. E. Coupland und T. Fujita (Hrsg.), Elsevier, Amsterdam, 191- 208

GABELLA, G., 1985:

Chicken gizzard, The muscle, the tendon and their attachment
Anat. Embryol., 171: 151-162

GALLAGHER, J. T., 1984:

Carbohydrate- binding properties of lectins a possible approach to lectin nomenclature and classification.

Bioscience Reports, 4: 621-632

GOLDSTEIN, A., 1983:

The Dynorphin peptides, in:

Peptides. Structure and Function, V. J. Hruby und D. H. Rich (Hrsg.), Pierce Chemical Company, Rockford, Illinois, 409-419

GOLDSTEIN, A., 1984:

Biology and chemistry of the Dynorphin peptides, in:
The Peptides: Analysis, Synthesis, Biology, Vol. 6, S. Udenfriend
and J. Meienhofer (Hrsg.), Academic Press, Inc., 96-146

GOLDSTEIN, I. J., 1980:

Lectins: their nature and application.

Qualityline spring 1980 issue, Miles Laboratories, Inc.
(publisher)

GOLDSTEIN, I. J., 1981:

Lectins: an overview.

Biotechs, Autumn 81-1, E-Y Laboratories, Inc. (publisher)

GOLDSTEIN, I. J., und C. E. HAYES, 1978:

The lectins: carbohydrate- binding proteins of plants and
animals. Adv. Carbohydrate Chem. Biochem., 35: 127-340

GONNELLA, P. A., und M. R. NEUTRA, 1985:

Glycoconjugate distribution and mobility on apical membranes of
absorptive cells of suckling rat ileum in vivo.

Anat. Rec., 213: 520-528

GRIMELIUS, L., 1968:

A silver nitrate stain for $\alpha 2$ cells in human pancreatic islets.

Acta Soc. Med. Upsal., 73: 243-270

GRUBE, D., 1980:

α - Endorphin- like immunoreactivity in plasma cells of the
canine colonic mucosa.

Histochemistry, 69: 157-160

GRUBE, D., K. H. VOIGT, E. WEBER, 1978:

Pancreatic Glucagon cells contain endorphin- like immuno-
reactivity.

Histochemistry, 59: 75-79

HAZELWOOD, R. L., 1980:

The avian gastro- enteric- pancreatic system. structure and function, in:

Avian endocrinology, A. Eppler und M. H. Stetson (Hrsg.), Academic Press, NY, Lo, 231-250

HELLERSTRÖM, C., und B. HELLMANN, 1960:

Some aspects of silver impregnation of the islets of Langerhans in the rat.

Acta endocrinol., 35: 518-532

HODGES, R. D., 1981:

The gastro- entero- pancreatic endocrine system, in Form and Function in Birds, Vol. 2, A. S. King und J. McLelland (Hrsg.), Academic Press, NY, Lo, 176-191

HORVATH, J., 1974:

Electron microscope study of chicken proventriculus
Acta Vet. Acad. Sci. Hung., 24: 85-97

HUGHES, J., T. W. SMITH, H. W. KOSTERLITZ, L. A. FOTHERGILL, B. A. MORGAN, H. R. MORRIS, 1975:

Identification of two related pentapeptides from the brain with potent opiate agonist activity.

Nature, 258: 577-579

IWANAGA, T., und J. YAMADA, 1980:

Endocrine- like cells of peculiar shape in the proventriculus of the chicken - possible mechanoreceptors?

Biomedical Research, 1, Supplement: 28-32

JAIN, D. K., 1976:

Histomorphology and proteolytic activity in the gastric apparatus of frugivorous, carnivorous and omnivorous species of birds.

Acta biol. Acad. Sci. Hung., 27: 135-145

KONDO, H., H. KURAMOTO, T. IWANAGA, 1984:

Immunohistochemical study on met-enkephalin-Arg-Gly-Leu-like immunoreactive nerve fibers in the rat adrenal medulla.

Brain Res., 310: 371-375

LARSSON, L.-I., F. SUNDLER, R. HÅKANSON, J. F. REHFELD, F. STADIL, 1974:

Distribution and properties of Gastrin cells in the gastrointestinal tract of chicken.

Cell Tissue Res., 154: 409-421

LIENER, I. E., N. SHARON, I. J. GOLDSTEIN, 1986:

The Lectins: properties, functions and applications in biology and medicine.

Academic Press, NY, Lo

LIS, H., und N. SHARON, 1977:

Lectins: their chemistry and application to immunology, in: The antigens, Vol. 4, M. Selai (Hrsg.), Academic Press, NY, 429-529

LUPPA, H., 1962:

Histologie, Histogenese und Topochemie der Drüsen des Sauropsidenmagens, II. Aves.

Acta histochem., 13: 233-300

MÄKELÄ, O., 1957:

Studies in hemagglutinins of leguminose seeds. Ann. Med. Exp. Biol. Fenn., 35, Suppl. 11: 1-156

McGUIGAN, J. E., 1968:

Gastric mucosal intracellular localization of gastrin by immunofluorescence.

Gastroenterology, 55: 315-327

McLELLAND, J., 1979.

Canalis alimentarius, in:

Nomina anatomica avium, Baumel, J. J. (ed.), Academic press, Lo., NY, Toronto, 270-286

MICHEL, G., 1971

Zur Histologie der Schleimhaut des Drusen- und Muskelmagens von Huhn und Ente.

Mh. Vet. Med., 26: 907-911

MILLER, R. J., J. F. KACHUR, P. L. SMITH, S. GUANDALINI, M. FIELD, 1980

Peptides in the control of gastrointestinal function in Peptides Integrators of cell and tissue function, F. E. Bloom (ed.), Raven Press, NY, 127-146

NISHIDA, T., Y. PAIK, M. YASUDA, 1968.

Comparative and topographical anatomy of the fowl LVIII Blood vascular supply of the glandular stomach (ventriculus glandularis) and the muscular stomach (ventriculus muscularis) Jap. J. Vet. Sci., 31: 64-70

NUMA, S., 1984.

Opioid peptide precursors and their genes, in:

The Peptides Analysis, Synthesis, Biology, Vol. 6, S. Udenfriend and J. Meienhofer (Hrsg.), Academic Press, Inc., 1-25

OLOWO- OKORUN, M. O., und B. O. AMURE, 1973:

Gastrin activity in the chicken proventriculus. Nature, 246: 424-425

PERT, C. B., und S. H. SNYDER, 1973:

Opiate Receptor: Demonstration in nervous tissue. Science, 179: 1011-1014

PLENDL, J., 1986:

Die spezifische Darstellbarkeit von Blutgefäßen der NMRI- Maus
während der Organogenese mit Dolichos biflorus- Agglutinin.
Inaug.- Diss., München

POLAK, J. M., A. G. E. PEARSE, C. ADAMS, J.-C. GARAUD, 1974:
Immunohistochemical and ultrastructural studies of the
Endocrine Polypeptide (APUD) Cells of the avian gastrointestinal
tract.

Experientia, 30: 564-567

POLAK, J. M., S. N. SULLIVAN, S. R. BLOOM, P. FACER, A. G. E. PEARSE, 1977:
Enkephalin- like immunoreactivity in the human gastrointestinal
tract.

The Lancet, May 7: 972-974

PRETZLAFF, W., 1984:

Wirkung von Opiat- Agonisten und - Antagonisten am isolierten
Dünndarm verschiedener Tierspecies.

Inaug.- Diss., München

RAWDON, B. B., und A. ANDREW, 1981:

An immunocytochemical survey of endocrine cells in the
gastrointestinal tract of chicks at hatching.

Cell Tissue Res., 220: 279-292

ROMEIS, B., 1968:

Mikroskopische Technik, 16. Aufl.

R. Oldenbourg Verlag, München, Wien

ROTH, J., 1978:

The lectins: molecular probes in cell biology and membrane
research.

Gustav Fischer Verlag, Jena

ROTH, J., 1983:

Application of lectin- gold- complexes for electron microscopic localization of glycoconjugates on thin sections.

J. Histochem. Cytochem., 31: 987-999

SATO, A., und S. S. SPICER, 1982:

Ultrastructural visualization of galactose in the glycoprotein of gastric surface cells with a peanut lectin conjugate

Histochem. J., 14: 125-138

SCHINKO, I., 1986:

Lektinbindungsstellen und Lektinaufnahmestudien am Epithel der Milchdrüse der Ratte, Licht- und elektronenmikroskopische in vivo- und in vitro- Untersuchungen.

Inaug.- Diss., München

SEIZINGER, B., 1983:

Dynorphin, Rimorphin und α - Neo- Endorphin - Charakterisierung eines neuen endogenen Opioid- Peptid- Systems

Inaug.- Diss., München

SHARON, N., und H. LIS, 1975:

Use of lectins for the study of membranes, in: Methods in membrane biology, Vol. 3, E. D. Korn (Hrsg.), Plenum Press NY, 147-199

SHARON, N., 1977:

Lectins.

Scient. Americ., 236: 108-117

SOLCIA, E., A. G. E. PEARSE, D. GRUBE, S. KOBAYASHI, G. BUSSOLATI, W. CREUTZFELD, W. GEPTS, 1973:

Revised Wiesbaden classification of gut endocrine cells.

R. C. Gastroent., 5: 13-16

SPAMPINATO, S., und A. GOLDSTEIN, 1983:

Immunoreactive Dynorphin in rat tissues and plasma.

Neuropeptides, 3: 193-212

STERNBERGER, L. A., 1979:

Immunohistochemistry, 2. Aufl.

John Wiley (Hrsg.), NY

STILLMARK, H., 1888:

Über Ricin, ein giftiges Ferment aus den Samen von Ricinus
comm. L. und einigen anderen Euphorbiaceen.

Inaug. Diss., Dorpat

TANGE, A., 1983:

Distribution of peptide- containing endocrine cells and neurons
in the gastrointestinal tract of the dog: immunohistochemical
studies using antisera to Somatostatin, Substance P, Vasoactive
Intestinal Polypeptide, Met- Enkephalin, and Neurotensin.
Biomedical Research, 4: 9-24

TERENIUS, L., 1973:

Characteristics of the "receptor" for narcotic analgesics in
synaptic plasma membrane fraction from rat brain.
Acta Pharmacol., 33: 377-384

TONER, P. G., 1963:

Postosmication of submucosal gland cells in the fowl
proventriculus.

Z. Zellforsch., 60: 204-212

TONER, P. G., 1964:

The fine structure of gizzard gland cells in the domestic fowl.

J. Anat., 98: 77-86

TRIMBLE, J. J. III, und S. A. THOMPSON, 1976:

The distribution of Concavalin A binding sites on the intestinal epithelium of the nematodes *Ascaris suum* and *Parascaris equorum*.

Cell Tissue Res., 172, 357-363

UDENFRIEND, S., und D. L. KILPATRICK, 1984.

Proenkephalin and the products of its processing chemistry and biology, in:

The Peptides. Analysis, Synthesis, Biology, Vol 6, S Udenfriend und J. Meienhofer (Hrsg.), Academic Press, Inc., 26-69

VIAL, J. D., J. GARRIDO, M. DABIKE, C. KOENIG, 1979

Muscle proteins and the changes in shape of avian oxynticopeptic cells in relation to secretion

Anat. Rec., 194, 293-310

WATKINS, W. B., J. F. BRUNI, S. S. C. YEN, 1980:

β - Endorphin and Somatostatin in the pancreatic D- cell, Colocalization by immunocytochemistry

J. Histochem. Cytochem., 28: 1170-1174

YAMADA, J., A. SUGITANI, T. YAMASHITA, M. MISU, 1980:

Exocytotic granule release in quail Gastrin cells
Biomedical Research, 1, Supplement: 24-27

YAMADA, J., M. YOSHINO, T. YAMASHITA, M. MISU, N. YANAIHARA, 1979

Distribution and frequency of gastrin cells in the digestive tract of the Japanese quail.

Arch. histol. jap., 42: 33-39

YAMADA, J., N. KITAMURA, T. YAMASHITA, 1985.

The relative frequency and topographical distribution of Somatostatin-, GRP-, APP-, Glucagon-, 5-HT-, and Neurotensin-immunoreactive cells in the proventriculus of seven species of birds.

Arch. histol. jap., 48: 305-314

YAMADA, J., T. IWANAGA, T. OKAMOTO, T. YAMASHITA, M. MISU, N. YANAIHARA, 1983:

Ultrastructure of avian Gastrin cell granules.

Arch. histol. jap., 46: 57-63

YAMADA, J., T. KAYAMORI, T. OKAMOTO, T. YAMASHITA, M. MISU, 1978.

Endocrine cells in the pyloric region of the Japanese Quail (*Coturnix coturnix japonica*).

Arch. histol. jap., 41: 41-52

YAMAGUCHI, S., J. YAMADA, N. KITAMURA, T. YAMASHITA, 1986.

Ontogeny of the endocrine cells in the quail proventriculus.

Z. mikrosk.-anat. Forsch., 100: 981-989

DANKSAGUNG

Für die freundliche Überlassung des Themas und die jederzeit gewährte Beratung und Betreuung bei der Erstellung dieser Doktorarbeit gilt mein besonderer Dank meinem Doktorvater Prof. Dr. F. Sinowatz.

Allen Mitarbeitern des Instituts für Tieranatomie II, namentlich Herrn akad. Oberrat Dr. F. H. Feder, danke ich herzlich für ihre Beratung und Hilfe bei der Anfertigung dieser Arbeit.

Bei meinen Vorgesetzten und Mitarbeitern am Zentralen Institut des Sanitätsdienstes der Bundeswehr München bedanke ich mich für die Überlassung des Arbeitsplatzes und die freundlich gewährte Hilfe in der Anfangsphase der Arbeit.

LEBENS LAUF

- 1960: geboren am 28. 2. in Weilheim als erstes Kind von
Josef Hauke (Verwaltungsangestellter) und
Luise Hauke, geb. Bobinger, (Hausfrau), gest. 1968
- 1966 - 1970: Besuch der Grundschule Weilheim
- 1970 - 1979: Besuch des Gymnasiums Weilheim, abgeschlossen mit dem
Abitur am 27. 6. 1979
- 1979 - 1984: Studium der Tiermedizin an der Universität München,
abgeschlossen mit dem Staatsexamen am 15. 11. 1984
- 1985: Approbation als Tierarzt am 18. 1. 1985
- 1985 - 1986: Ableistung des Grundwehrdienstes an der Sanitätsakademie
München und am Zentralen Institut des Sanitätsdienstes der
Bundeswehr München
- 1985 - 1987: Doktorand am Institut für Tieranatomie (Lehrstuhl für
Tieranatomie II, insbesondere Allgemeine Anatomie, Histologie und
Embryologie) der Universität München

